

3 M 15

Untersuchungen über die Entwicklung
von *Paramphistomum cervi*, Zeder 1790 in der
Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis*

Hilde-Ute Rückrich

1481

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

Untersuchungen über die Entwicklung von Paramphistomum cervi,
Zeder 1790 in der Zwischenwirtschnecke
Planorbis planorbis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München



von
Hilde-Ute Rückrich
aus
Bad Kreuznach

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c. J. Boch

Korreferent: Prof. Dr. Dr.habil. R. Hoffmann

Tag der Promotion: 24. Juli 1981



I.	Einleitung	1
II.	Vorkommen von <i>Paramphistomum cervi</i> sowie Einzelheiten der Entwicklung in der Zwischenwirtschnecke (anhand der Literatur) ...	2
III.	Eigene Untersuchungen	11
A.	Material und Methoden	11
B.	Ergebnisse	14
1.	Die Infektion von <i>Planorbis planorbis</i> mit Mirazidien von <i>Paramphistomum</i> <i>cervi</i>	14
2.	Die Larvenstadien von <i>Paramphistomum</i> <i>cervi</i> in <i>Planorbis planorbis</i>	22
3.	Die Ausschüttung von Zerkarien und ihre Enzystierung	37
IV.	Besprechung der Ergebnisse	43
V.	Zusammenfassung	56
	Summary	57
VI.	Literaturverzeichnis	58

Lebenslauf

I. EINLEITUNG

Der bei großen und kleinen Wiederkäuern parasitierende Pansenegel *Paramphistomum cervi* kommt in der Bundesrepublik Deutschland nur in wenigen, eng umgrenzten Gebieten vor. Lediglich massive frische Infektionen führen zu klinischen Erkrankungen, im allgemeinen sind Weidetiere nur latent infiziert. Pansenegel haben aber in tropischen Gebieten eine erhebliche pathogene Bedeutung bei Rindern.

Paramphistomum cervi ist ein ausgezeichnetes Modell zur Untersuchung der Entwicklung dieser Trematodengattung im Zwischen- und Endwirt. Es war das Ziel dieser Arbeit, Einzelheiten der Entwicklung von *Paramphistomum cervi* in der Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis* zu untersuchen und die verschiedenen Larvenstadien darzustellen. Dabei sollten die Empfänglichkeit von Schnecken unterschiedlichen Alters und verschiedener lokaler Herkunft sowie der Ablauf der Larvenentwicklung in bestimmten Temperaturbereichen berücksichtigt werden.

II. VORKOMMEN VON PARAMPHISTOMUM CERVI SOWIE EINZELHEITEN DER ENTWICKLUNG IN DER ZWISCHENWIRTSCHNECKE (anhand der Literatur)

Paramphistomum cervi, Zeder 1790 ist ein zu den Digenea gehörender 6-13 mm langer und 2-4 mm breiter Trematode von rötlichem Aussehen und rundlicher, birnenförmig gekrümmter Gestalt (SEYFARTH, 1938). Er ist charakterisiert durch einen kleinen Mundsaugnapf und einen großen endständigen Bauchsaugnapf. Als adulter Wurm parasitiert er zwischen den Pansenzotten von Haus- und Wildwiederkäuern mit Lieblingssitz im Bereich der vorderen und hinteren Pansenpfeiler, als Jugendstadium in der Mukosa und Submukosa des Duodenums (ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER, 1978).

Paramphistomiden sind weltweit verbreitet. Es existiert eine Vielzahl verschiedener Gattungen und Arten, die anhand des Darmverlaufes, der unterschiedlichen Ausbildung des Vas deferens (FISCHÖEDER, 1901) sowie des Aufbaues von Pharynx, Azetabulum und Genitalatrium im histologischen Präparat unterschieden werden können (NÄSMARK, 1937). Die Systematik einzelner Species ist vielfach uneinheitlich und umstritten (WRIGHT, SOUTHGATE und HOWARD, 1979).

Unter der Vielzahl der Vertreter der Gattung *Paramphistomum* sind die Arten *P. cervi* und *P. microbothrium* in Europa und den Mittelmeerländern von besonderer Bedeutung. Dabei ist das Auftreten der beiden Arten streng an das Vorkommen ihrer spezifischen Zwischenwirtschnecken gebunden. So findet man *Paramphistomum microbothrium* südlich der Alpen im Verbreitungsgebiet von *Bulinus contortus* in den Mittelmeerländern (CAEIRO, 1961), auf Korsika und Sardinien (REINHARDT, 1969; SEY und ARRÜ, 1977) sowie auf dem Balkan (SAMNALIEV, 1980). Diese Species kommt nach ARFAA (1962) auch im Iran und nach

GÜRALP (1974) in der Türkei vor. LENGY (1960) beschrieb Vorkommen und Biologie von *P. microbothrium* ferner in Israel. DINNIK und DINNIK (1954) beschäftigten sich intensiv mit *P. microbothrium* in Afrika. Neben dieser Form konnte DINNIK (1961, 1962, 1964 a) speziell in Ostafrika auch *P. phillerouxi*, *P. daubneyi* und *P. sukumum* nachweisen.

Paramphistomum cervi kommt vornehmlich in Nord- und Mitteleuropa, also außerhalb der Verbreitungslinie von *Bulinus contortus* vor (ODENING und GRÄFNER, 1979). So berichtete WILLMOTT (1950) über das Auftreten von *P. cervi* bei Rindern in England, Irland und auf den Kanalinseln. In Frankreich ermittelten GRABER, EUZEBY und GEVREY (1980) den Parasiten bei Rindern im Vendéegebiet. PAV (1962) isolierte *P. cervi* in der CSSR aus Wildwiederkäuern. Auch in Rumänien (SEY, 1978), in Jugoslawien (VUJIC, 1965) und im europäischen Teil der UDSSR (KAMBUROV, 1976) wurde diese Art nachgewiesen.

Über das Vorkommen von *P. cervi* in Deutschland berichtete erstmals SZIDAT (1937); ihm gelang es in der Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis* aus dem Raume Rositten Zerkarien zu isolieren. SEYFARTH (1938) und JAKOB (1950) beschrieben Fälle in der Umgebung von Hamburg sowie in Oldenburg. Ferner berichtete GOTTSCHALK (1962) von der Paramphistomatose in Rinderbeständen in den Bezirken Erfurt und Gera. Nach REINHARDT (1970) stellen die wasserreichen Weidegebiete am Niederrhein und an der unteren Weser sowie die Gegend um Hamburg und Bremen das Hauptverbreitungsgebiet von *P. cervi* in der BRD dar. KRANEBURG (1978), der Betriebe in drei norddeutschen Marschgebieten untersuchte, konnte dies bestätigen. Von KRANEBURG und HASSLINGER (1976) durchgeführte Überprüfungen von Schlachtrindern sowie vorgenommene Kotuntersuchungen weisen auf ein seltenes Vorkommen auch im Münchner Raum hin.

Nach GÜRALP (1974) sind in der Türkei 0,46-14,7 % der Schafe und 11 % der Ziegen mit *P. cervi* infiziert. In einer Zuchtfarm in Zentralanatolien erreichte die Infektionsrate bei Schafen sogar 57,7-100 %. Berichte über das Vorkommen des Parasiten bei Schafen in Indien (KATIYAR und VARSHNEY, 1961; BHATTA-

CHARYULA und PANDE, 1969) sowie bei Büffeln in West Pakistan (YUSUF und CHAUDRY, 1970) liegen ebenfalls vor.

Die Zwischenwirte von *P. cervi* sind Lungenschnecken der Familie Planorbidae. Nach ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER (1979) sind 12 verschiedene Planorbisarten bekannt, in denen die Entwicklung bis zur Ausschüttung reifer Zerkarien ablaufen kann. KRANEBURG (1977) gelang die Infektion von den 6 einheimischen Arten, nämlich *Planorbis planorbis*, *Anisus vortex*, *Anisus leucostomus*, *Bathyomphalus contortus*, *Hippeutis complanatus* und *Armiger crista*. *Planorbis planorbis*, eine in Deutschland weitverbreitete Wasserschnecke, lebt vor allem in Teichen, Tümpeln und stehenden Gewässern. Sie ist aber auch in der Lage, längere Austrocknung und Frostperioden erfolgreich zu überstehen (SZIDAT, 1937; KILIAS und FRICK, 1963).

Der Entwicklungszyklus ist in seinen Grundzügen bekannt und läuft bei allen Amphistomiden in etwa gleich ab (SOULSBY, 1965). Die fast farblosen, gedeckelten Eier gelangen mit dem Kot des Endwirtes in die Außenwelt. Sie gehören mit $120-186 \times 52-114 \mu\text{m}$ zu den größten Trematodeneiern überhaupt (SEY, 1974; ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER, 1979). Der in der Mitte liegende rundliche Keim ist von 50-80 granulierten Dotterzellen umgeben (KRANEBURG, 1977). Zur Weiterentwicklung ist wässriges, vorwiegend kotfreies Milieu notwendig (SWART und REINECKE, 1962). Die erforderliche Zeit für die Eireifung (bis zum Schlupf der Mirazidien) ist temperaturabhängig. Unterhalb von 10°C erfolgt keine Entwicklung; bei 15°C schlüpfen die Mirazidien nach 30-50 Tagen, bei 20°C bereits nach 18-22 Tagen (KRANEBURG, 1977). ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER (1979) geben für den Temperaturbereich $22-26^{\circ}\text{C}$ eine Entwicklungszeit von 13-15 Tagen an; bei Temperaturen von $26-31^{\circ}\text{C}$ erfolgte der Schlupf bereits nach 7-8 Tagen.

Licht hat keine Bedeutung für die Entwicklungsdauer der Mirazidien, ist aber als Kardinalreiz für den Schlupf der

reifen Wimperlarven von besonderer Bedeutung (LENGY, 1960). Auch KRANEBURG (1977) und ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER (1979) sehen Licht und Wärme als auslösende Faktoren an. Darüberhinaus stellte REINHARDT (1969) bei *P. microbothrium* fest, daß eine plötzliche pH-Änderung den Schlupf auch auslösen konnte; sogar bei völliger Dunkelheit konnten bei entsprechend langer Bebrütungsdauer und bei relativ hoher Temperatur Mirazidien schlüpfen. Für einen Massenschlupf von 80 % Mirazidien innerhalb einer Stunde jedoch sind Lichtreize, Temperaturen von 26°C sowie ein pH von 7,0 erforderlich (SCHMID, 1980). LENGY (1960) und REINHARDT (1969) beobachteten, daß Mirazidien unter natürlichen Bedingungen vor allem in den frühen Morgenstunden schlüpfen. Nach dem Öffnen des Operkulum gelangt die Wimperlarve durch kräftige Kontraktionsbewegungen aus der Eihülle (LENGY, 1960). Die Mirazidien von *P. cervi* sind 200-240 x 55-75 µm groß, "torpedoförmig", augenlos und bewimpert (ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER, 1979). DWARONAT (1966) beobachtete, daß Mirazidien des großen Leberegels *Fasciola hepatica* bei höheren Temperaturen und diffusem Licht die größte Aktivität, aber die kürzeste Lebensdauer zeigten. KRANEBURG (1977) konnte dies für Mirazidien von *P. cervi* bestätigen. Bei einer Temperatur von 4°C lebten einzelne Wimperlarven bis zu 40 Stunden, waren aber kaum beweglich. Bei 30°C dagegen bewegten sie sich lebhaft, blieben jedoch nur 4-5 Stunden am Leben. Dunkelheit wirkte aktivitätshemmend und verlängerte die Lebensfähigkeit. In destilliertem Wasser sowie in Teichwasser überlebten Mirazidien von *P. cervi* länger als in Leitungswasser (KRANEBURG und HASSLINGER, 1976).

Die Zwischenwirtsfindung ist bei allen Trematoden ein komplizierter Vorgang, bei dem vor allem chemotaktische Mechanismen beteiligt sind (SALADIN, 1979). DINNIK und DINNIK (1954) beobachteten, daß Mirazidien von *P. microbothrium* sich unmittelbar nach dem Schlupf bei der Zwischenwirtschnecke sammeln. Im Gegensatz dazu durchliefen die Wimperlarven von *P. cervi* zunächst eine Verteilungsphase und reagierten erst nach ca.

einer Stunde auf die Anwesenheit geeigneter Schnecken (SCHMID, 1980); anscheinend von spezifischen Stoffwechselprodukten angelockt umkreisen sie den Zwischenwirt. Negative Geotaxis und positive Phototaxis bringen die Wimperlarven in die Nähe der sich an der Wasseroberfläche aufhaltenden Planorbiden.

Nach DINNIK und DINNIK (1954, 1957) drangen Mirazidien von *P. microbothrium* und *P. sukari* innerhalb einer Stunde in die Zwischenwirtschnecke ein. Dagegen variierten diese Zeiten bei experimentellen Infektionen außerordentlich stark. So beließ KRULL (1934) Mirazidien von *Cotylophoron cotylophorum* lediglich 2 Stunden, VARMA (1961) dagegen 4 Stunden bei der entsprechenden Zwischenwirtschnecke. DINNIK (1954) brachte Infektionslarven von *P. sukari* 4 Stunden mit der spezifischen Schnecke zusammen. LENGY (1960) plante dagegen eine Infektionszeit von 8 Stunden für *P. microbothrium* ein. *P. cervi*-Mirazidien drangen nicht in die Weichteile der Schnecke ein (BURGU, 1980), wie es für *Fasciola gigantica* charakteristisch ist (KADHIM und ALTAIF, 1970), sondern gelangten über das Pneumostom in die Atemhöhle; dort setzten sie sich im respiratorischen Epithel fest.

Nach DINNIK und DINNIK (1954) und LENGY (1960) wehrten sich Schnecken oft heftig gegen das Eindringen der Mirazidien, indem sie ihren Körper krampfartig kontrahierten und sich in ihr Gehäuse zurückzogen. Durch die dabei entstehende Wasserströmung wurden bereits angeheftete Mirazidien oft wieder losgerissen und verließen die Schnecke. Der Penetrationsvorgang dauerte nach Beobachtungen von LENGY (1960) bei *P. microbothrium*-Mirazidien 40-60 Minuten. Das Eindringen ließ sich bei jungen Schnecken wegen der durchsichtigen Schalen und Gewebe gut beobachten (DURIE, 1953). Nach intensiven Such- und Bohrbewegungen bettete sich zunächst die Apikalpapille des Mirazidiums ins Gewebe der Atemhöhle ein, das Hinterende wurde schnell nachgezogen.

Es bestehen Unterschiede in der Empfänglichkeit von Schnecken verschiedenen Alters (GLUZMAN, 1967; LO, 1972; BURGU, 1980) und

unterschiedlicher Herkunft (KRANEBURG, 1977). Mit steigender Mirazidiendosis erhöhte sich die Anzahl infizierter Schnecken, wie es LO (1972) bei *Schistosoma haematobium* beobachten konnte. Dagegen führte schon ein Mirazidium von *Trichobilharzia ocellata* zum Infektionserfolg (SLUITERS, BRUSSAARD-WÜST und MEULEMAN, 1980)..

Die Umwandlung der Wimperlarve zur Sporozyste vollzieht sich erst allmählich. Eine Stunde nach der Penetration sind noch Zilien am Hinterende des Mirazidiums erhalten (BURGU, 1980). Die Keimballen lösen sich in einzelne Zellen auf, die sich neu gruppieren (REINHARDT, 1969). Bei allen Paramphistomiden entwickeln sich Sporozysten in der Atemhöhle und im Bereich um den Darmtrakt der Schnecke (BURGU, 1980). Bei *P. microbothrium* beobachteten DINNIK und DINNIK (1954) bei starker Infektion Sporozysten auch im Fuß oder im Hepatopankreas des Zwischenwirtes; DINNIK (1961) fand bei *P. phillie-rouxi* diese Larvenform sogar in den Tentakeln einer Schnecke.

Die Weiterentwicklung aller Larvenstadien in der Zwischenschnecke ist temperaturabhängig. BURGU (1980) identifizierte zwar bereits am 2. Tag p.i. Sporozysten von *P. cervi*, doch beobachtete KRANEBURG (1977) bei 17-20°C Wassertemperatur diese pharynx- und darmlosen Gebilde bis zum 44. Tag p.i.. Während dieser Zeit entwickelten sich aus den Keimballen der Sporozysten die ersten Redien. Diese bewegten sich erstmals am 13. Tag p.i. außerhalb der Sporozystenhülle frei im Schneckengewebe bei einer Temperatur von 17-20°C. Bei einer Temperatur von 28°C traten sie bei *P. microbothrium* bereits am 10. Tag p.i. auf (LENGY, 1960).

Die Redien besitzen bereits Mundöffnung, Pharynx, kurzen Ösophagus und Darm; auch ein primitives Nerven- und Exkretionssystem ist ausgebildet. Schon vor dem Verlassen der Sporozyste sind zahlreiche Embryonalballen im Körperinneren vorhanden (LENGY, 1960). KRANEBURG (1977) beobachtete das Schlüpfen von 8-12 *P. cervi*-Redien aus einer Sporozyste. BURGU (1980) bestätigte diese Mitteilung.

Bei *P. microbothrium* konnten DINNIK und DINNIK (1954) 28 Redien pro Sporozyste, LENGY (1960) in einer 34 Tage alten Sporozyste sogar 87 Redien und zahlreiche Keimballen auszählen. Die frei beweglichen Redien finden sich in der Atemhöhle und in der Mitteldarmdrüse der Schnecke (ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER, 1978). KRANEBURG (1977) gibt die Körpermaße von reifen Redien mit $500-710 \times 170-220 \mu\text{m}$ an. Aus ihren Keimballen entwickeln sich im Hepatopankreas und im Ovotestis Tochterredien oder Zerkarien.

TAKAHASHI (1928), SZIDAT (1937) und auch ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER (1978, 1979) beobachteten in natürlich mit *P. cervi* infizierten Schnecken nur Mutterredien, die bereits Zerkarien beherbergten. KRANEBURG und HASSLINGER (1976) dagegen konnten um den 38.-40. Tag zumindest vereinzelt Tochterredien identifizieren. KISELEV (1967) ist der Meinung, daß Tochterredien von *P. ichikawai* nur im Herbst gebildet werden. Andererseits treten bei *P. sukari* und *P. phillerouxi* regelmäßig mehrere Rediengenerationen auf (DINNIK und DINNIK, 1957; DINNIK, 1961). Auch bei *P. microbothrium* wiesen DINNIK und DINNIK (1954) 4 Rediengenerationen nach, die sich bei $18-22^{\circ}\text{C}$ Wassertemperatur innerhalb von 80 Tagen entwickelten. LENGY (1960) bestätigte die Beobachtung, daß bei *P. microbothrium* mehrere aufeinanderfolgende Rediengenerationen existieren. Er vermutete aber, daß nur wenige Redien der folgenden Generationen die Fähigkeit zur Bildung von Tochterredien besitzen.

Nach BURGU (1980) entwickelten sich Tochterredien unabhängig von der Jahreszeit und in geringerer Anzahl als Zerkarien. Allerdings wurden Tochterredien nur im lateralen Teil der Mantelhöhle gefunden. Freie Redien gelangten ins Hepatopankreas und entließen dort schubweise 2-6 unreife Zerkarien (KRANEBURG, 1977). LENGY (1960) beschrieb bei *P. microbothrium* reife Redien in der Leber, in der Mantelhöhle und im Bereich des Darmes; dies sind aber die bevorzugten Stellen der Sporozystenentwicklung. Danach würden nicht alle Redien in der Schnecke zum Hepatopankreas und Ovotestis wandern, um erst

dort Zerkarien zu entlassen. Auch freie, unreife Zerkarien bewegten sich von der Mantelhöhle zur Mitteldarmdrüse.

Bei Temperaturen von 17-20°C traten unreife, noch nicht pigmentierte Schwanzlarven nach KRANEBURG (1977) ab dem 34. Tag p.i. in Leber und Ovotestis auf. Sie sind zunächst rundlich, mit einem breiten Stummelschwanz versehen und 240 x 120 µm groß. Nach 1-2 Wochen ist ihre Entwicklung abgeschlossen (ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER, 1978). Dabei breitet sich die von den Augenflecken ausgehende Pigmentierung in dendritenartigen Projektionen über die Oberfläche des Körpers aus bis die Zerkarie vollständig dunkelbraun gefärbt ist (LENGY, 1960). Zerkarien haben Mund- und Bauchsaugnapf und werden bis 345-477 x 323-375 µm groß (ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER, 1979). Der unpigmentierte Ruderschwanz erreicht eine Länge von 700-900 µm (KRANEBURG, 1977) und ist von einer Mukoidflosse umgeben (BURGU, 1980).

Die gesamte Entwicklungszeit von *P. cervi* in der Schnecke ist stark temperaturabhängig. Bei Wassertemperaturen von 18-21°C werden 49-91 Tage von ABDEL GHANI (1960) sowie MEREMINSKI, GLUZMAN und ARTEMENKO (1971) genannt. Dagegen beobachtete KRANEBURG (1977) sowie ALTAIF und Mitarb. (1978) bei 28°C schon nach 30 Tagen ein erstes Schwärmen von Zerkarien.

Bereits KRULL (1934) und BENNETT (1936) berichteten von einer Ausscheidung von Cotylophoron-Zerkarien zwischen 8³⁰ und 13⁰⁰ Uhr. SZIDAT (1937) beschrieb dagegen, daß die optimale Ausschwärmung um die Mittagsstunde liegt und nur bei entsprechender Helligkeit stattfindet. Auch LENGY (1960) und BURGU (1980) sahen das Licht als Kardinalreiz zum Zerkarienausstoß. Schwanzlarven von *P. cervi* verhielten sich positiv heliotrop im Gegensatz zu denen von *F. hepatica*, *F. indica* (VARMA, 1961) und *Schistosoma rhodhaini*, welche nur nachts schwärmen (PITCHFORD und Mitarb., 1969).

Die Wassertemperatur ist für den Ausstoß ebenfalls von Bedeutung. Unter 18°C schwärmen Schwanzlarven nicht. Der optimale Temperaturbereich liegt zwischen 24 und 28°C, 30°C

blockieren die Ausschüttung (KRANEBURG, 1977). LENGY (1960) beobachtete, daß *P. microbothrium*-Zerkarien bei starker Beleuchtung 2-9 Stunden lang ausgeschieden werden. VARMA (1961) und GLUZMAN (1967) wiesen auf den pH-Wert des Wassers hin.

Freie Zerkarien schwammen nach den Beobachtungen von KRANEBURG (1977) 1-3 Stunden lebhaft umher und sammelten sich dann an der Wasseroberfläche; dort enzystierten sie sich an Wasserpflanzen und Gräsern. Nach Abwerfen des Schwanzes wird ein "zystogenes Material" abgesondert, das die mehrschichtige Metazerkarienhülle bildet. Der gesamte Enzystiervorgang dauerte bei *P. microbothrium* 20 Minuten (LENGY, 1960). Die 250 µm großen, uhrglasartig festsitzenden Metazerkarien sind als schwarze Punkte erkennbar. Augenflecke und manche inneren Strukturen bleiben durch die Hülle hindurch sichtbar. In feuchtem Milieu können diese Dauerformen lange überleben. Bei Aufbewahrung im Kühlschrank blieben sie mindestens 5 Monate und im Freien während des Winters 2-3 Monate lang infektiösfähig (KRANEBURG, 1977). HORAK (1967) beobachtete ein stärkeres Abnehmen der Lebensfähigkeit ab dem 63. Tag; er empfiehlt deshalb für Infektionszwecke nur Metazerkarien, die bis 40 Tage alt sind und bei 4°C aufbewahrt werden.

Werden die an Gräsern sitzenden Metazerkarien vom Endwirt aufgenommen, wird die Zystenhülle in den ersten 6 Metern des Dünndarms fermentativ aufgelöst (HORAK, 1967). Die etwa 0,5 mm langen Trematoden setzen sich in der Darmschleimhaut fest und bleiben dort etwa einen Monat, ehe sie submukös zum Pansen zurückwandern und die Geschlechtsreife erlangen (ARRU, DEIANA und MUZZETTO, 1970; BORAY, 1959). Während der intestinalen Phase entwickelt sich bei starkem Befall eine akute Duodenitis mit wässrigem Durchfall, Abmagerung und Ödemen. Diese intestinale Paramphistomatose ist nicht sicher zu diagnostizieren, da Eier im Kot noch nicht ausgeschieden werden (REINHARDT, 1970). Die Wanderung zum Pansen ist um den 70. Tag abgeschlossen (KRANEBURG und BOCH, 1978); die Präpatenz beträgt 97-107 Tage (GLUZMAN und ARTEMENKO, 1969; KRANEBURG und BOCH, 1978).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material und Methoden

Die aus dem Kot eines experimentell infizierten Fleckvieh-rindes stammenden Paramphistomum-Eier wurden in einem kombinierten Sedimentations-Siebe-Verfahren angereichert. Nach 3 bis 4 Sedimentationsdurchgängen von jeweils 4 Minuten wurden die Sedimente durch Siebe mit einer Maschenweite von 200, 135 und 70 μm gegossen und aus dem 70 μm -Sieb, dessen Maschen für die Eier nicht mehr passierbar sind, mit Leitungswasser in graduierte Plastikpetrischalen gespült. Diese verpackte ich in Alufolie, um einen vorzeitigen Schlupf der Mirazidien durch Lichtreize zu vermeiden. Zur Entwicklung schlupffreier Wimperlarven wurden die Eier 14 Tage lang bei 26°C bebrütet.

Für den Mirazidienschlupf goß ich das über den Eiern stehende Wasser ab und überschichtete den Bodensatz mit frischem Wasser von pH 7,0 und einer Temperatur von 26-28°C. Der pH-Wert des Wassers wurde durch CO₂-Begasung eingestellt. Bei Beleuchtung mit 2 Glühbirnen zu je 100 Watt (entspricht ca. 5000 Lux) schlüpften die Mirazidien nach etwa einer Stunde.

Zur Gewinnung der Mirazidien verbrachte ich die schlupfreifen Paramphistomum-Eier in einen 100 ml- Meßkolben und füllte bis zur Eichmarkierung mit Wasser (pH 7, 26-28°C) auf. Nachdem der Bodensatz gut aufgeschüttelt worden war, verblieb das Gefäß eine Stunde unter einer Lichtquelle mit etwa 5000 Lux. Dann verdunkelte ich das Gefäß bis auf 3 cm des Kolbenhalses mit Alufolie, worauf sich die positiv phototropen Mirazidien im beleuchteten Teil anreicherten.

Als Zwischenwirte verwendete ich Schnecken der Art Planorbis planorbis und zwar solche, die ursprünglich in der Gegend

um Münster und Wolfratshausen gesammelt wurden und seit mehreren Jahren ans Labor adaptiert sind, ferner frische "Wildfänge" aus der Gegend um Seeg/Allgäu sowie Schnecken aus der Umgebung von Ankara/Türkei. Da unsere Laborschnecken stark mit Chaetogaster limnaei befallen waren, wurde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen vor der Infektion über einen Zeitraum von 8 Stunden die Wassertemperatur auf 32°C erhöht. (persönliche Mitteilung von PATZIG).

Die Zwischenwirte wurden in Makrolonbecken in einer gut durchlüfteten Mischung aus Leitungswasser und Aqua dest., die wöchentlich gewechselt wurde, gehalten. Die jeweils erwünschte Wassertemperatur stellte ich mit Hilfe von Regelheizstäben ein. Als Schneckenfutter diente Kopfsalat.

Zur Ermittlung der Infektionsdosis wurden junge Planorbis planorbis (Ø 5 mm) in den Fächern einer Mikrotiterplatte bzw. in kleinen Petrischalen mit einer abgezählten Menge Mirazidien oder schlupffreien Eiern zusammengebracht. Bei Dosierungen bis zu 30 Mirazidien pro Schnecke wurden die Wimperlarven bzw. schlupffreien Eier einzeln mit einer Eppendorfpipette hinzugegeben, während ich höhere Dosierungen (100 bis 10 000 Mirazidien pro Schnecke) durch Zusammenschütten mehrerer Petrischalen bekannter Eizahl erreichte.

Die Infektion erfolgte bei 26-28°C, bei pH 7 und einer Beleuchtung von ca. 5000 Lux. Dabei beließ ich die Schnecken 4 Stunden im Infektionsbad.

Die einzelnen Entwicklungsstadien im Zwischenwirt beobachtete ich einerseits durch die Schale der lebenden Schnecke hindurch, andererseits anhand von Quetschpräparaten. Hierzu wurden mit Formalin abgetötete Schnecken zwischen 2 Objektträgern gequetscht und anschließend von der Schale befreit. Dann isolierte ich die Larvenstadien aus dem Schneckengewebe; anschließend wurden sie differenziert, ausgezählt, gemessen und photographiert.

Als optische Hilfsmittel dienten mir eine Stereolupe mit Zoom-Objektiv für Vergrößerungen 6,4 - 32 x sowie ein Mikro-

skop mit 100- und 400- facher Vergrößerung. Die photographische Dokumentation erfolgte mit einem Photomakroskop (WILD M 400) und einer Photoeinrichtung für Mikroskope (WILD MPS 51).

Die Zerkarienausschüttung wurde durch 7-stündige Beleuchtung mit künstlichem Licht (zwei 100 Watt-Glühlampen im Abstand von 35 cm) bei einer Wassertemperatur von 22-26°C und einem pH von 7,5-8,2 stimuliert. Die Schnecken befanden sich während der Ausscheidung in Glaspetriscalen, die mit weißem Filterpapier oder Plastikfolie vollständig ausgekleidet waren. Zur Enzystierung der Zerkarien wurden Blätter von Zyperngras (*Cyperus papyrus*) auf die Wasseroberfläche gelegt. Die Zählung der Metazerkarien erfolgte mit bloßem Auge. Um Fehler bei der Auszählung auszuschalten, wurden die Pflanzenteile und die Plastikfolie bzw. das Filterpapier in kleine Streifen geschnitten. Schnecken, die nur einmal pro Woche Zerkarien ausscheiden sollten, wurden die übrige Zeit in Dunkelheit gehalten. Zur Ermittlung, welche Farbe die Zerkarien zum Enzystieren bevorzugen, wurden auf Wand und Boden von Glaspetriscalen von außen gleichgroße und gleichviele Areale verschiedener Farbe mit Wachsmalkreide aufgetragen.

B. Ergebnisse

1. Die Infektion von *Planorbis planorbis* mit Mirazidien von *P. cervi*.

Um den Verlauf der Infektion nach dem Zusammenbringen der Zwischenwirtschnecke mit den Mirazidien festzustellen, wurden schlupffreie Eier in die Fächer einer Mikrotiterplatte verbracht und eine Stunde lang beleuchtet. Anhand der leeren Eihüllen war zu sehen, wann alle Mirazidien geschlüpft waren. Zu den 1/2 bis 1 Stunde alten Wimperlarven wurden nun die Zwischenwirtschnecken gesetzt und die verbliebenen Mirazidien stündlich über einen Zeitraum von 5 Stunden rückgezählt.

Das Hauptinfektionsgeschehen spielte sich innerhalb von 3 Stunden nach dem Zusammenbringen von Schnecken und Mirazidien ab; es waren 76-83 % der Wimperlarven (Tab. 1) aus dem "Infektionsbad" verschwunden.

Schnecken- Anzahl	Dosis/ Schnecke	Anzahl der Mirazidien	eingedrungene Mirazidien in % nach				
			1h	2h	3h	4h	5h
10	20	200	26	53	76	86	97
8	25	200	18	60	83	90	95
8	30	240	23	64	77	87	91

Tab. 1: Eindringungsrate der Mirazidien von *Paramphistomum cervi* in die Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis* innerhalb von 5 Stunden

Es konnte nicht ausgeschlossen werden, daß einige Mirazidien während der 5-stündigen Beobachtungsdauer bereits gestorben waren, sich aufgelöst hatten und deshalb nicht mehr im Infektionsbad zu finden waren. Daher wurden, um das Ergebnis eventuell noch zu präzisieren und die für experimentelle Infektionen optimalen Zeiten zu ermitteln, jeweils 19 Planorbis planorbis unterschiedlich lange in einer Mirazidiensuspension belassen. Es handelte sich hier nicht um definierte Zahlen, sondern um Masseninfektionen mit 300-500 frischgeschlüpften Mirazidien pro Schnecke. Die Schneckengruppen wurden nach jeweils 1/2, 1, 2, 3 und 4 Stunden aus dem "Infektionsbad" genommen und der Infektionserfolg am 3. Tag p.i. ermittelt, indem ich durch die Schale hindurch im äußeren Umgang die sich entwickelnden Sporozysten mit Lupenvergrößerung feststellte.

Dabei zeigte die Schneckengruppe, welche den Mirazidien 3 Stunden lang ausgesetzt war, eine Infektionsrate von 73,7 %; kürzere Exposition erbrachte lediglich 31,6-36,8 % (Tab. 2). Die durchschnittliche Anzahl von Sporozysten pro Schnecke stieg mit der Infektionsdauer.

Infektions- dauer (Std.)	Infektions- rate (%)	durchschnittliche Sporozystenzahl pro Schnecke
1/2	31,6	1,0
1	36,8	2,1
2	36,8	2,4
3	73,7	3,8
4	75,0	3,9

Tab. 2: Infektionsrate und durchschnittliche Sporozystenzahl (Paramphistomum cervi) pro Schnecke (Planorbis planorbis) bei einer Infektionsdauer von 1/2 bis 4 Stunden

Es ist bekannt, daß der Infektionserfolg abhängig ist von der Mirazidienanzahl pro Schnecke. Um die für eine erfolgreiche Infektion notwendige Mindestanzahl von Mirazidien zu ermitteln, wurden jeweils Gruppen von 10 Jungschnecken ($\emptyset$ 3-5 mm) mit 1, 5, 10, 15, 20, 25 oder 30 Mirazidien pro Schnecke in der Mikrotiterplatte infiziert, wobei ich die geschlüpften Wimperlarven einzeln unter der Lupe mit einer Eppendorfpipette einzählte. Dies beanspruchte bei Dosierungen von 15-30 Mirazidien pro Schnecke relativ lange Zeit, so daß die zugesetzten Larven bis zu 4 Stunden alt waren. In 2-tägigem Abstand (vom 8.-22. Tag p.i.) überprüfte ich den tatsächlichen Stand der Infektion durch die Schale hindurch mit Lupenvergrößerung.

Erst ab 25 Mirazidien pro Schnecke kam es bei einer der 10 Planorbis planorbis zur Ausbildung einer Sporozyste im Gewebe der Atemhöhle. Bei einer Dosis von 30 Mirazidien pro Schnecke beherbergten 2 Zwischenwirte je eine Sporozyste in der Mantelhöhle.

Da von anderen Trematoden bekannt ist, daß nur wenige Mirazidien Schnecken mit Sicherheit infizieren, wiederholte ich den vorausgegangenen Versuch, indem ich pro Schnecke 20, 25 oder 30 reife Eier zugab; dadurch war gewährleistet, daß die eindringenden Wimperlarven ganz frisch und alle gleich alt waren. Pro Dosis wurden 10 Planorbis planorbis-Schnecken verwendet.

Auch hier konnte bei einer Infektionsdosis von 20 Mirazidien bei keiner Schnecke eine bleibende Infektion beobachtet werden. Bei 25 Mirazidien pro Schnecke beherbergte lediglich eine Planorbis planorbis gegen Ende des Versuches 2 reife Sporozysten im Gewebe um den Darmtrakt. Dagegen waren bei 30 Mirazidien pro Schnecke am 22. Tag p.i. immerhin 6 Schnecken infiziert, wovon 4 Planorbis planorbis je eine und 2 Zwischenwirtschnecken je 2 reife Sporozysten beherbergten. Es scheint ein Spezifikum für Paramphistomum cervi zu sein, daß mindestens 25 Mirazidien pro Schnecke erforderlich sind, um zur Ausbildung

von Sporozysten zu führen; dabei spielt das Alter der Mirazidien eine wesentliche Rolle für den Erfolg.

Um zu ermitteln, wie sich ein Mirazidienüberangebot auf die Infektionsrate und auf die durchschnittliche Anzahl an Sporozysten pro Schnecke auswirkt, wurden 3-4 Monate alten *Planorbis planorbis* steigende Dosen (100, 300, 500, 1000 und 10 000) von Mirazidien in Plastikpetrischalen ($\varnothing$ 5,4 mm) zugesetzt und der Erfolg am 7., 14. und 21. Tag p.i. überprüft. In Tabelle 3 sind die Infektionsrate in % sowie die Zahl der beobachteten Sporozysten dargestellt.

Schnecken- Anzahl	Mirazidien- Dosis/Schnecke	Infektionsrate in % und durch- schnittliche Sporozystenanzahl (..) am .. Tag p.i.		
		7.	14.	21.
15	100	38 (1,3)	40 (1,3)	40 (1,5)
15	300	40 (2,2)	33 (2,3)	20 (1,6)
16	500	56 (3,7)	54 (5,4)	50 (4,5)
20	1 000	80 (2,7)	75 (2,8)	70 (3,2)
5	10 000	40 (2,5)	40 (2,0)	40 (3,5)

Tab. 3: Infektionsrate (%) und durchschnittliche Sporozystenanzahl pro *Planorbis planorbis* bei Dosen von 100, 300, 500, 1000 und 10 000 *P. cervi*-Mirazidien am 7., 14. und 21. Tag p.i.

Mit steigender Mirazidienzahl erhöhte sich die Infektionsrate. Sie erreichte bei 1000 Mirazidien am 7. Tag p.i. einen Wert von 80 %. Allerdings war dann (Extremdosis von 10 000 Mirazidien pro Schnecke) keine Steigerung mehr zu erreichen. Es ist interessant, daß innerhalb von 3 Wochen die Infektionsrate zum Teil erheblich abnahm; manche Schnecken waren in der Lage, mit der Infektion völlig fertig zu werden.

Es sollte ferner die Frage abgeklärt werden, ob in Schnecken 4 Tage nach einer Primärinfektion erneut Mirazidien eindringen können (Superinfektion). Hierzu wurden 42 Jungschnecken zweimal einem Überangebot von Mirazidien (= Masseninfektion) ausgesetzt. Eine ebenso große Kontrollgruppe wurde parallel dazu nur einmal infiziert.

Überraschenderweise (Tab. 4) zeigten sich bei einer zweimaligen Infektion höhere Infektionsraten (67-87 %) als bei der einmaligen (29-48 %). Dies beweist aber noch nicht, daß eine 2. Infektion tatsächlich stattgefunden hat; es könnten beim zweiten Mal nur diejenigen Schnecken von Mirazidien penetriert worden sein, bei denen die erste Infektion ohne Erfolg verlief. Deshalb wurde die durchschnittliche Anzahl Sporozysten beider Gruppen verglichen. Sie war bei den zweimal infizierten Schnecken höher als bei der Kontrollgruppe. Der Versuch zeigte gleichzeitig, daß sich Sporozysten in gleichem Maße zurückbildeten, unabhängig von einer einmaligen oder zusätzlich zweiten Infektion.

Tag p.i.	Primärinfektion		Superinfektion	
	Inf.rate (%)	durchschnittl. Sporoz.zahl	Inf.rate (%)	durchschnittl. Sporoz.zahl
7	36	2,0	86	3,0
10	33	2,0	79	3,0
13	48	1,9	71	3,8
16	29	1,7	67	3,9

Tab. 4: Infektionsrate in % sowie durchschnittliche Anzahl von Sporozysten nach 1- bzw. 2-maliger Infektion (4 Tage später) von *Planorbis planorbis* mit *P. cervi*-Mirazidien

Eine Superinfektion war auch zu einem späteren Zeitpunkt, wenn also schon Redien und Zerkarien ausgebildet sind, möglich. 16 Schnecken, die bereits freie Redien in der Atemhöhle und reife und unreife Zerkarien im Hepatopankreas und Ovotestis beherbergten, wurden am 49. Tag nach der Erstinfektion in eine Mirazidiensuspension verbracht und beleuchtet. Unter gleichzeitiger Entlassung von reifen Zerkarien in das Infektionsbad konnten 6 der 16 Schnecken (dies entspricht einer Infektionsrate von 37,5 %) zum zweiten Mal erfolgreich infiziert werden.

36 weitere Schnecken ($\emptyset$ 6,5-9,2 mm), die sich beim ersten Mal nicht infizieren ließen, wurden einem Mirazidienüberangebot ausgesetzt, um eine eventuelle "Resistenz" unseres Scheckenstammes auszuschließen. Der Infektionserfolg wurde am 7. und 14. Tag p.i. mit Lupenvergrößerung im äußeren Umgang durch die Schale ermittelt. Es zeigte sich, daß diese Schnecken nicht grundsätzlich unempfindlich für Infektionen mit *P. cervi* sind.

Am 7. Tag p.i. waren immerhin 44 % der Zwischenwirtschnecken infiziert, am 14. Tag p.i. nur noch 36 %.

Schließlich wurde die unterschiedliche Empfänglichkeit von Schnecken verschiedenen Alters, mit Parasitenbefall (Chaetogaster) und unterschiedlicher lokaler Herkunft untersucht.

Um den Einfluß des Alters zu überprüfen, testete ich die Empfänglichkeit von 4 Wochen, 1 1/2 - 3 Monate und über 4 Monate alten Planorbis planorbis. Dabei erwiesen sich junge Schnecken wesentlich empfänglicher als ältere. 4 Wochen alte Planorbis planorbis wiesen Infektionsraten von 84 % (7. Tag p.i.) auf, die aber innerhalb von 4 Wochen p.i. um ca. 8 % sanken (Tab. 5). Laborschnecken mit einem Alter von 1 1/2 - 3 Monaten ließen sich zu 70 % (7. Tag p.i.) infizieren; auch hier konnten 7 % die Infektion erfolgreich abwehren. Die Altersgruppe über 4 Monate war mit 33 % (7. Tag p.i.) am wenigsten empfänglich; hier ging die Infektion bei 16 % der Schnecken zurück.

Schnecken		Infektionsrate (%) .. Tage p.i.			
Alter (Monate)	Anzahl	7.	14.	21.	28.
1	130	84	80	79	76
1 1/2-3	214	70	63	61	63
über 4	137	33	33	20	17

Tab. 5: Empfänglichkeit von Planorbis planorbis unterschiedlichen Alters für eine Infektion mit Paramphistomum cervi

Da unsere Laborschnecken teilweise stark mit dem Oligochaeten Chaetogaster limnaei, dem in der Literatur die Funktion eines Mirazidienfressers zugeschrieben wird, befallen waren, sollte die Infizierbarkeit dieser Schnecken mit der einer chaetogaster-freien Kontrollgruppe verglichen werden. 66 etwa 2-3 Monate alte von Chaetogaster befallene Laborschnecken (15-20 Chaetogaster pro Schnecke) und eine ebenso große Kontrollgruppe gleichen Alters wurden einem Mirazidienüberangebot ausgesetzt und der Stand der Infektion am 7. Tag p.i. kontrolliert. Dabei zeigte sich, daß der Chaetogasterbefall das Infektionsergebnis ganz erheblich verschlechterte. Infektionsrate (24,5 %) und durchschnittliche Sporozystenanzahl (1,4) lagen unter den Werten der Chaetogaster-freien Kontrollgruppe (65 % bzw. 2,75). Vor experimentellen Infektionen ist es unbedingt ratsam, die Schnecken einige Tage zuvor von den Oligochaeten zu befreien, da sonst die Infektionsraten unbefriedigend sind. Ich erhöhte daher an 3 aufeinanderfolgenden Tagen vor der Infektion die Wassertemperatur 8 Stunden lang auf 32°C (persönliche Mitteilung von PATZIG).

Die Infektionsraten (am 7. Tag p.i. ermittelt) und die durchschnittliche Sporozystenanzahl von Planorbis planorbis, die über 2 Jahre an Laborbedingungen adaptiert waren, wurden mit denen von frischen "Wildfängen" aus dem Allgäu und aus der Gegend um Ankara verglichen. Jeweils 20 der etwa 5-7 mm großen Schnecken verschiedener lokaler Herkunft wurden einer Masseninfektion ausgesetzt. Die "Laborschnecken", die ursprünglich aus der Gegend um Münster und Wolfratshausen stammten, ließen sich besser infizieren (60 %) als frische "Wildfänge" aus der Gegend um Seeg/Allgäu (20 %) und Planorbis planorbis aus der Gegend um Ankara/Türkei (27 %). Auch die durchschnittliche Sporozystenanzahl war bei den an Laborbedingungen adaptierten Schnecken mit 2,8 Sporozysten pro Schnecke höher als bei den beiden anderen Gruppen. Sie betrug bei den im Allgäu gesammelten Planorbis planorbis 1,3, während die Schnecken aus der Gegend um Ankara durchschnittlich 2,2 Sporozysten beherbergten. Es

bestehen also deutliche Unterschiede in der Empfänglichkeit bei Schneckenstämmen mit verschiedener lokaler Herkunft.

2. Die Larvenstadien von *Paramphistomum cervi* in *Planorbis planorbis*

Bei meinen Untersuchungen konnten 5 unterschiedliche Larvenstadien durch die Schale der lebenden Schnecke erkannt werden. Es handelt sich dabei um:

- a. bräunliche, runde, im Innern homogen aussehende Formen oder relativ transparente Gebilde mit pigmentiertem Rand, bei denen Keimballen schon andeutungsweise zu beobachten sind; sie sind als unreife Sporozysten anzusprechen (Abb. 1)

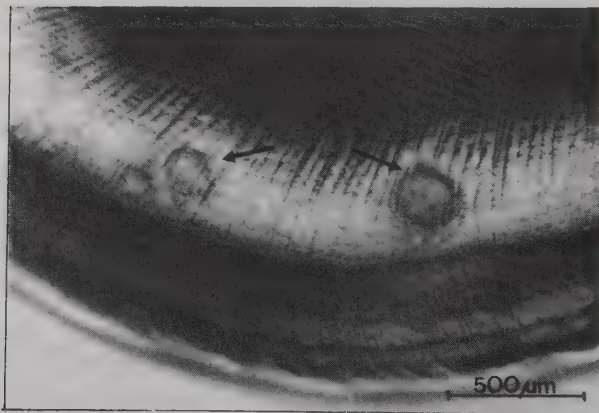


Abb. 1: Unreife Sporozysten von *Paramphistomum cervi* (↑) im respiratorischen Epithel der Atemhöhle von *Planorbis planorbis*

- b. wurstförmige oder sackartige Gebilde, die Sekundärstrukturen aufweisen; es handelt sich um reife Sporozysten mit Redien und Keimballen
- c. schlanke längliche Formen, die relativ starke Eigenbewegungen ausführen und in ihrem Innern runde Keimballen erkennen lassen; sie sind als freie Redien anzusprechen, deren morphologische Charakteristika, Pharynx und Gastrocoel, aber durch die Schale nicht zu erkennen sind (Abb. 2)

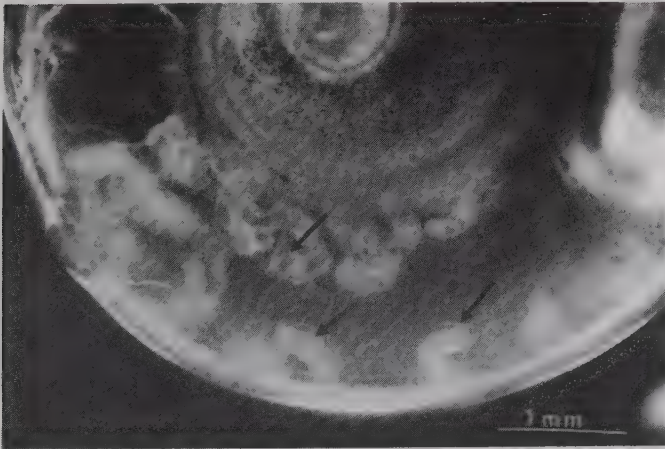


Abb. 2: Freie Redien von *Paramphistomum cervi* (↗) in der Atemhöhle von *Planorbis planorbis*

- d. unreife Zerkarien, deren bläßer Körper zunächst nur rund um die Augenpunkte dunkelbraun pigmentiert ist und einen kurzen Schwanz trägt; bei fortschreitender Entwicklung breitet sich das Pigment in dendritenartigen Projektionen über den ganzen Larvenkörper aus

e. reife Zerkarien mit vollkommen dunkelbraun pigmentiertem Körper und farblosem langen Schwanz (Abb. 3.)

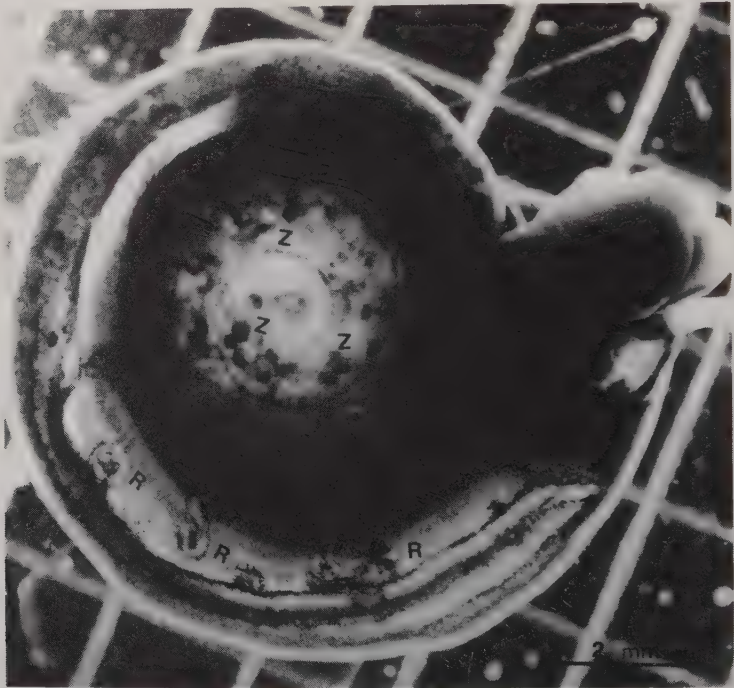


Abb. 3: Infizierte *Planorbis planorbis* im Überblick mit freien Redien (R) in der Atemhöhle, mit Zerkarien (Z) von *Paramphistomum cervi* in Hepatopankreas und Ovo-testis

Die Entwicklung der Larvenstadien im Zwischenwirt ist stark temperaturabhängig. Dies wurde bei 4 verschiedenen Temperaturstufen untersucht (16-17, 18-20, 25 und 27-30°C).

Bei allen Temperaturen zeigten sich bereits am 1. Tag p.i. unreife Sporozysten. Bei dem Erscheinen der folgenden Larven-

stadien jedoch machte sich der Einfluß der Temperatur deutlich bemerkbar. So traten bei 27-30°C schon am 6. Tag p.i., bei 16-17°C erst am 23. Tag freie Redien auf (Tab. 6). Der erste Zerkarienausstoß war bei 27-30°C am 27. Tag zu beobachten, während bei 16-17°C die Ausschüttung erst ab dem 110. Tag erfolgte.

Wasser- temperatur .. °C	erstes Auftreten der Entwicklungsstadien nach .. Tagen p.i.				
	Sporozysten		freie Redien	Zerkarien	
	unreif	reif		unreif	reif
16-17	1	9	23	85	110
18-20	1	6	13	46	67
25	1	5	11	25	33
27-30	1	4	6	22	27

Tab. 6: Erstes Auftreten der verschiedenen Entwicklungsstadien von *Paramphistomum cervi* in *Planorbis planorbis* in Abhängigkeit von der Wassertemperatur

Der Verlauf der Infektion bzw. die allmähliche Entwicklung der verschiedenen Stadien wurden an 35 infizierten *Planorbis planorbis* untersucht. Dabei wurde die Entwicklung der gesamten Gruppe mit Lupenvergrößerung durch die Schale verfolgt und gleichzeitig 1-2 Schnecken dieser Gruppe seziert, die Larvenstadien isoliert, ausgezählt, gemessen und photographiert. Die Wassertemperatur betrug bei diesem Versuch 25°C.

Bei der Beurteilung der Infektion durch das Gehäuse am 4. Tag p.i. variierte das Aussehen der Sporozysten bei den einzelnen Schnecken stark. Es traten neben runden braunpigmentierten oder homogen aussehenden Gebilden längliche, transparente Formen mit Sekundärstrukturen im Innern auf. Bei einer seziierten Schnecke konnte ich 6 Sporozysten mit einer Größe von $163-286 \times 82-163 \mu\text{m}$ freipräparieren. Sie befanden sich im Gewebe der Atemhöhle und im lockeren Bindegewebe um den Darmtrakt. Aus den Sporozysten ließen sich zu diesem frühen Zeitpunkt bereits zahlreiche Keimballen und emryonale Redien ($100 \times 60 \mu\text{m}$) isolieren. In Hepatopankreas, Ovotestis und den Weichteilen der Schnecke waren keine Larvenformen zu finden.

Bei der Beobachtung der gesamten Gruppe am 10. Tag p.i. fiel auf, daß die Morphologie der Sporozysten immer noch sehr unterschiedlich war. Obwohl alle Schnecken am selben Tag infiziert und bei gleicher Wassertemperatur gehalten wurden, traten unreife und reife Formen gleichzeitig auf. Bei der Sektion sah man sogar schon sich gerade aus den Sporozysten befreiende Redien. Diese konnten am ausgeprägten Pharynx und Gastrocoel leicht identifiziert werden. Bei einer Größe von $532-650 \times 180-188 \mu\text{m}$ enthielten sie bereits 8-10 Keimballen in ihrem Körperinnern und waren stark beweglich. Weichteile, Mitteldarmdrüse und Ovotestis der Schnecke waren immer noch larvenfrei.

Am 13. Tag p.i. fand ich im Gewebe der Atemhöhle einer Schnecke 4 Sporozysten, aus denen jeweils 3 oder 4 vollausgebildete Redien und zahlreiche Keimballen zu isolieren waren. Die Größe der Redien lag zwischen $284-386 \times 132-199 \mu\text{m}$.

Bei der Beurteilung der infizierten Schneckengruppe am 18. Tag p.i. waren noch immer unreife, bräunliche Sporozysten, wenn auch in geringerer Anzahl neben reifen Formen anzutreffen, die Redien entließen. Beim Freiwerden der Redien löste sich die Sporozystenwand nicht auf, sondern sie schlüpfen durch einen präformierten Geburtsporus. Die verbliebenen Sporozysten

enthielten immer noch ein Reservoir an Keimballen. Bei der Sektion gelang das Freipräparieren einer reifen Sporozyste aus dem Gewebe der Atemhöhle. Sie war $736 \times 188 \mu\text{m}$ groß und von wurstähnlicher Gestalt. Durch eine starke Querkonstriktion war sie in 2 Segmente unterteilt. In einem Teil befanden sich kurz vor dem Schlupf stehende vollentwickelte Redien, im anderen $195 \times 64 \mu\text{m}$ kleine Redien und zahlreiche Keimballen.

Am 23. Tag p.i. entließen nahezu alle Sporozysten Redien. Junge Redien bewegten sich in großer Zahl frei in der Atemhöhle, entlang der Niere in Richtung Mitteldarmdrüse; gleichzeitig waren im Hepatopankreas und Ovotestis bei wenigen Schnecken bereits unreife Zerkarien zu erkennen. Bei der Sektion von 2 Schnecken enthielt die erste eine $871 \times 183 \mu\text{m}$ große Sporozyste im Mantelgewebe mit 2 vollständig ausgebildeten Redien ($400 \times 100 \mu\text{m}$; $313 \times 94 \mu\text{m}$) und 5-6 Keimballen. Hepatopankreas und Ovotestis waren larvenfrei. Die zweite Planorbis enthielt 4 freie nur wenig bewegliche Redien in der Atemhöhle (Größe $720-1173 \times 156-188 \mu\text{m}$) mit 8-15 Keimballen und zahlreichen Keimzellen im Körperinnern. Die sich an Pharynx und Gastrocoel anschließenden Keimballen waren am größten ($\emptyset 94-153 \mu\text{m}$); die weiter distal befindlichen hatten nur Durchmesser von ca. $24 \mu\text{m}$. Die Schnecke beherbergte außerdem noch 4 reife Sporozysten. Diese enthielten jeweils 5-12 Keimballen neben sehr kleinen embryonalen Redien ohne Keimballen und 3 vollausgebildeten Redien. In Hepatopankreas und Ovotestis waren erstmals unzählige Redien ($705-1057 \times 141-188 \mu\text{m}$) und freie unreife Zerkarien mit dunkelbraunem Pigment um die Augenpunkte anzutreffen.

Die mikroskopische Untersuchung durch das Gehäuse erbrachte am 31. Tag p.i. bei der Mehrzahl der Schnecken unreife und reife Zerkarien neben reifen Sporozysten und freien Redien. Die Sektion einer Schnecke erbrachte eine $912 \times 250 \mu\text{m}$ große

Sporozyste (Abb. 4 a) im Gewebe um den Darm, die drei 307-387 x 85-121 μm große Redien (Abb. 4 b) und 8-9 Keimballen enthielt. Aus der Atemhöhle isolierte ich 9 freie Redien (850-1180 x 170-189 μm), aus Hepatopankreas und Ovotestis 25 unreife Zerkarien mit runder oder dendritenartig ausgezogener Pigmentierung um die Augenpunkte und 9 Redien.

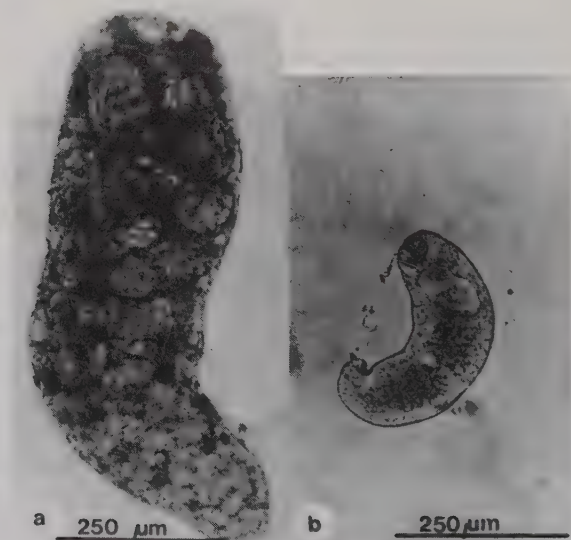


Abb. 4: Entwicklungsstadien von *Paramphistomum cervi* in der Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis* (nach experimenteller Infektion)

- a: reife Sporozyste, am 31. Tag p.i. aus dem respiratorischen Epithel der Atemhöhle isoliert
- b: aus einer Sporozyste isolierte Redie ohne deutlich abgegrenzte Keimballen

Nahezu alle Schnecken enthielten am 39. Tag p.i. reife Zerkarien in der Mitteldarmdrüse und im Ovotestis, daneben noch immer intakte Sporozysten, freie Redien und wenige unreife Zerkarien in der Atemhöhle. Bei der Sektion fand ich in der Atemhöhle und in dem Gewebe um den Darm einer Schnecke 7 Sporozysten, 43 freie Redien (Abb. 5) und 15 unreife Zerkarien; die Redien können offensichtlich Zerkarien nicht nur im Hepatopankreas, sondern auch in der Atemhöhle entlassen.

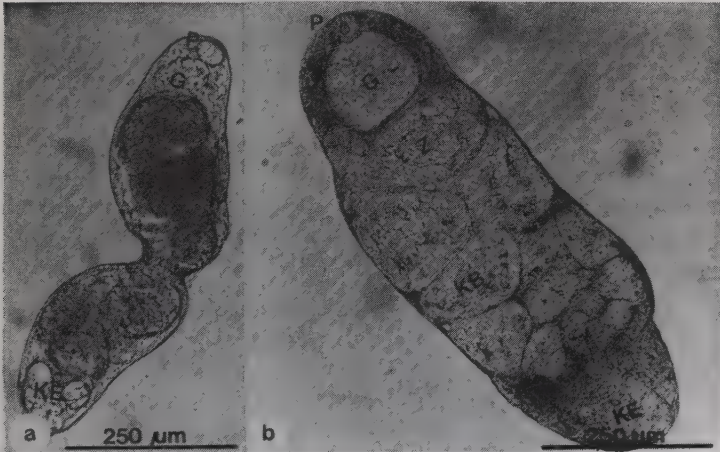


Abb. 5: Freie Redien von *Paramphistomum cervi* aus der Atemhöhle einer experimentell infizierten *Planorbis planorbis*

a: isoliert am 39. Tag p.i.

P = Pharynx
G = Gastrocoel

b: isoliert am 45. Tag p.i.

Z = Zerkarien
KB = Keimballen
KE = Keimzellen

Aus Mitteldarmdrüse und Ovotestis waren 153 Redien und 187 unreife Zerkarien (Abb. 6) zu isolieren, aber bei dieser Schnecke noch keine reifen Zerkarien.

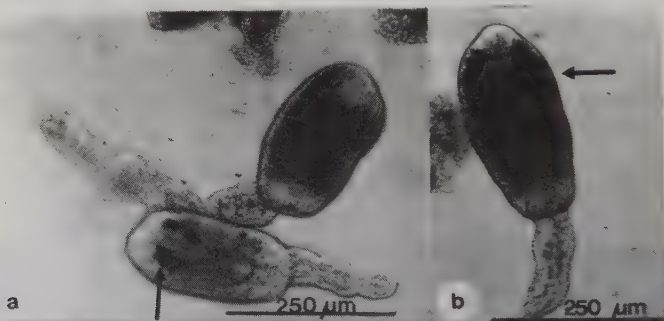


Abb. 6: Unreife Zerkarien von *Paramphistomum cervi*, isoliert aus der Mitteldarmdrüse einer experimentell infizierten *Planorbis planorbis*

- a: rund um die Augenpunkte angeordnetes Pigment (7)
- b: Pigmentierung sich dendritenartig über den Zerkarienkörper ausbreitend (7)

Alle noch verbliebenen Schnecken enthielten am 42. Tag p.i. unreife und reife Zerkarien. Bei einer seziierten Schnecke konnte ich 4 unsegmentierte, sackartige von schwarzem Pigment umgebene Sporozysten isolieren (durchschnittliche Größe: $380 \times 120 \mu\text{m}$). Da sie keine Redien und Keimballen mehr enthielten, schien es sich um degenerierte Formen zu handeln, deren Produktionskapazität erschöpft war. In der Atemhöhle fand ich 17 freie Redien, 62 unreife Zerkarien und im lockeren

Bindegewebe um das Darmrohr 26 reife Zerkarien (Abb. 7).
Hepatopankreas und Ootestis beherbergten 127 Zedien und
insgesamt 448 reife und unreife Zerkarien.



Abb. 7: Reife Zerkarie von *Paramphistomum cervi* aus einer
experimentell infizierten *Placobius planorbis* (Mund-
saugnapf [MS], Bauchsaugnapf [BS], Augenpunkte [AP],
Gabeldarm [GD], Exkretionssystem [ES])

Die vorrausgegangenen Beobachtungen zeigten, daß sich Sporozysten nur in Geweben der Atemhöhle und um den Darmtrakt festsetzten. Freie Redien fand ich in der Respirationshöhle und zu einem späteren Zeitpunkt im Hepatopankreas und Ovotestis; dort schließen sie ihre Entwicklung ab. In der Mitteldarmdrüse und im Ovotestis waren ferner unreife Zerkarien anzutreffen, weniger häufig aber auch in der Atemhöhle. Dies würde bedeuten, daß nicht alle Redien zur Mitteldarmdrüse wandern, sondern ein Teil unreife Zerkarien in der Atemhöhle entläßt. In der Regel reifen die Zerkarien in Hepatopankreas und Ovotestis (Abb. 8) und wandern dann entlang des Darmes zurück (Abb. 9), um den Zwischenwirt in der Gegend um den Anus zu verlassen.

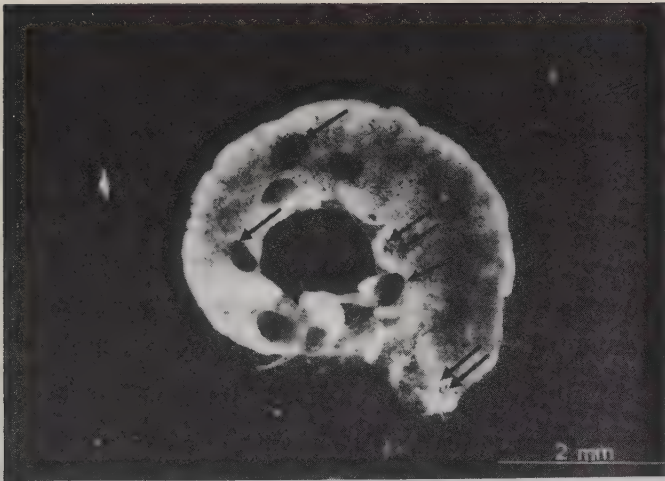


Abb. 8: Hepatopankreas und Ovotestis einer mit *Paramphistomum cervi* infizierten *Planorbis planorbis* mit großen Mengen reifer (♂) und unreifer (♂♂) Zerkarien

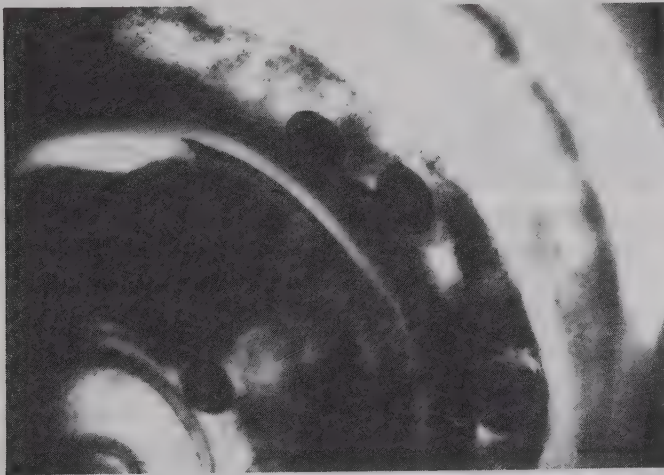


Abb. 9: Reife Zerkarien von *Paramphistomum cervi*, die entlang des Darmes einer experimentell infizierten *Planorbis planorbis* zurückwandern und kurz vor dem Verlassen der Schnecke stehen

Bei am selben Tag infizierten und bei gleicher Wassertemperatur gehaltenen Schnecken zeigte sich eine große Variationsbreite im zeitlichen Auftreten der Larvenformen innerhalb der Gruppe. Dies wird daran deutlich, daß am 4. Tag p.i. nicht bei allen Schnecken reife Sporozysten zu beobachten waren. Sogar am 18. Tag p.i. schien das Innere mancher Sporozysten noch homogen zu sein und keine Sekundärstrukturen zu enthalten. Andererseits konnte ich schon am 10. Tag p.i. bei der Sektion einer Schnecke eine freie Redie isolieren. Im allgemeinen entlassen nahezu alle Sporozysten zwischen dem 18. und 23. Tag p.i. Redien. Auch das Auftreten der unreifen Zerkarien erfolgt nicht bei allen Schnecken gleichzeitig, ebenso die erste Ausscheidung.

Die Entwicklung der Larvenstadien verläuft nicht in einer zeitlich hintereinandergeschalteten Folge, sondern die Formen treten nebeneinander auf. Die Sporozysten bleiben sehr lange bestehen und enthalten immer nur 3-4 vollentwickelte Redien. In ihrem Körperinnern bleibt immer ein Reservoir an embryonalen Redien und Keimballen zurück. Eine Sporozyste entläßt also die von ihr produzierten Redien schubweise. Die ersten leeren, degenerierten Sporozysten fand ich am 42. Tag p.i.. Auch Redien entlassen die sich aus den Keimballen entwickelnden unreifen Zerkarien nur in Schüben. Sie beherbergen immer nur eine kleine Anzahl unreifer Schwanzlarven, die sich unmittelbar an Pharynx und Gastrocoel anschließen. Der distale Teil ihrer Körperhöhle ist mit Keimballen und deren Vorstufen, den Keimzellen, angefüllt.

Die Ausbildung von Tochterredien konnte ich nur zweimal beobachten. So sah ich am 46. Tag p.i. in einer Mutterredie, die aus dem Mantelgewebe einer bei 18°C Wassertemperatur gehaltenen Planorbis planorbis isoliert worden war, distal von Pharynx und Gastrocoel 3 unreife Zerkarien mit Stummelschwänzen (Abb. 10 a), daran anschließend 2 Tochterredien (243 x 47 µm) und 5-6 Keimballen. Die Tochterredien sind anhand ihrer Saugnapfe gut zu bestimmen (Abb. 10 b). In einer bei 25°C Wasser-

temperatur gehaltenen Schnecke konnte ich am 55. Tag p.i. eine Tochterredie, die sich im Körperinnern der Mutterredie direkt an Pharynx und Gastrocoel anschloß, finden. Distal der Tochterredie befanden sich zahlreiche Keimballen. Diese aus dem Hepatopankreas isolierte Mutterredie enthielt also im Gegensatz zu der bereits beschriebenen keine Zerkarien. Es scheint also Redien der Elterngeneration zu geben, die sowohl Zerkarien als auch Tochterredien produzieren und solche die möglicherweise nur Tochterredien produzieren.

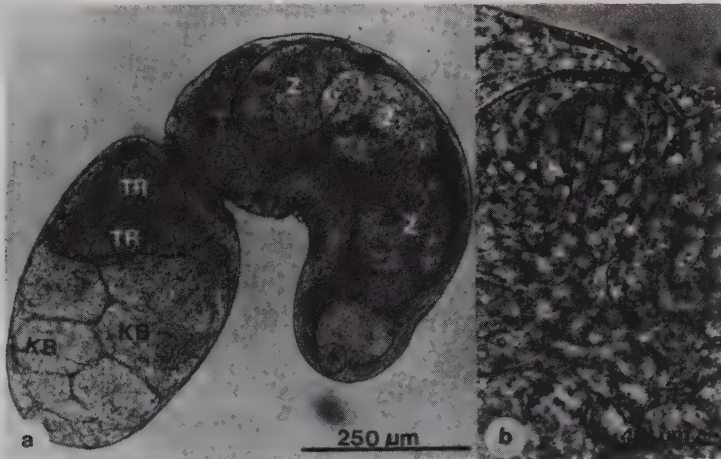


Abb. 10 a: Freie Redie von *Paramphistomum cervi*, die am 46. Tag p.i. aus dem Mantelgewebe einer *Planorbis planorbis* isoliert wurde. Im Körperinnern: 3 unreife Zerkarien mit Stummelschwanz (Z), 2 Tochterredien (TR) und 6 Keimballen (KB)

b: Saugnapf einer Tochterredie von *Paramphistomum cervi* (↗)

Die Entwicklung der Larvenstadien von *Paramphistomum cervi* sowie ihr Wanderweg in der Zwischenwirtschnecke *Planorbis planorbis* wird durch die folgende Graphik (Abb. 11) im Überblick dargestellt.

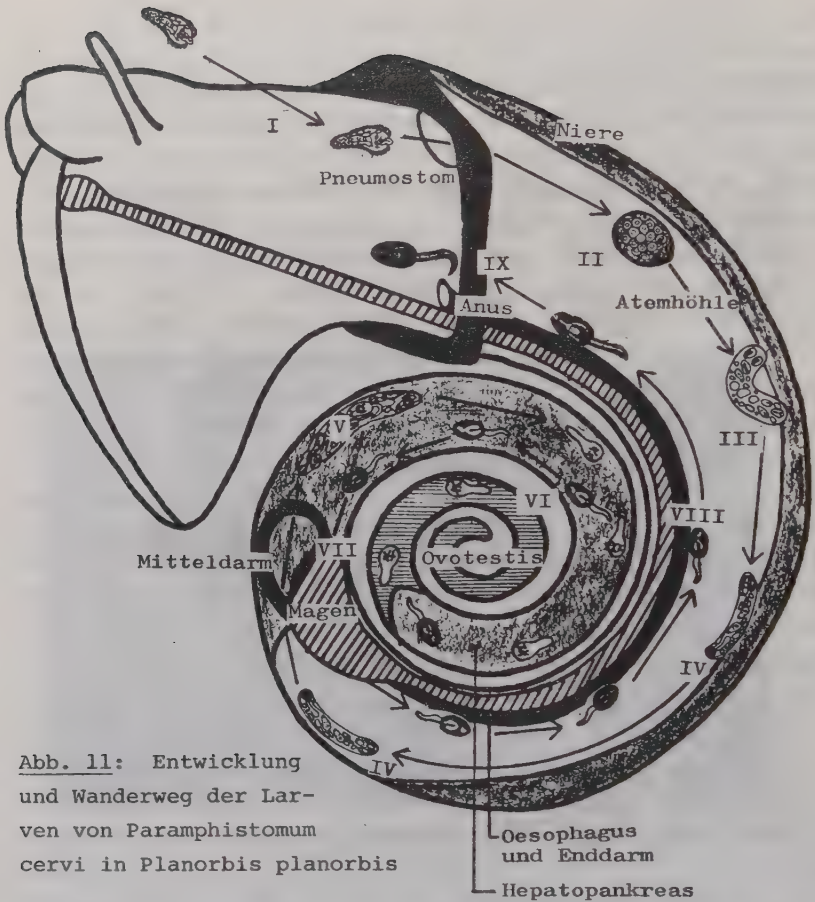


Abb. 11: Entwicklung und Wanderweg der Larven von *Paramphistomum cervi* in *Planorbis planorbis*

- I = Eindringen der Mirazidien durch das Pneumostom in die Atemhöhle
- II = Junge Sporozyste
- III = Reife Sporozyste
- IV = Freie Redien
- V = Reife Redie, die im Hepatopankreas unreife Zerkarien entläßt
- VI = Heranreifen der Zerkarien in Hepatopankreas und Ovotestis
- VII = Die reifen Zerkarien verlassen das Hepatopankreas
- VIII = Rückwanderung der reifen Zerkarien entlang des Darmrohres
- IX = Die Zerkarien verlassen die Schnecke in Anusgegend

3. Die Ausschüttung von Zerkarien und ihre Enzystierung

5 *Planorbis planorbis*, die nach der Infektion mit *P. cervi* bei einer Wassertemperatur von 25°C gehalten wurden, schieden am 33. Tag p.i. erstmals Zerkarien aus. Die Schnecken wurden täglich bei einer Wassertemperatur von 22-26°C und einem pH von 7,5-8,2 7 Stunden lang beleuchtet. Zur Feststellung der stündlich ausgeschiedenen Zerkariemenge wurden sie jeweils einzeln nach Ablauf einer Stunde in frische mit Filterpapier ausgekleidete Petrischalen gesetzt. Nach Beendigung des Enzystiervorgangs konnten die Metazerkarien mit bloßem Auge auf dem Filterpapier und den Zyperngrasblättern (*Cyperus papyrus*) ausgezählt werden. Die Schnecken wurden 18 Tage lang mit zweimaliger Ruhepause von 2 bzw. 3 Tagen täglich zur Ausscheidung gezwungen.

Die Zerkarienausscheidung begann meist in den ersten beiden Stunden nach der Beleuchtung, in Ausnahmefällen aber auch erst in der 3., 4. oder 5. Stunde. Die Gesamtdauer der Ausschüttung zog sich über 6, manchmal sogar über 7 Stunden hin. Der Zeitpunkt der stündlichen Ausscheidungsmaxima war sehr unregelmäßig. Am 1. Ausscheidungstag bewegte sich die größte stündliche Ausschüttung zwischen 51 und 11 Zerkarien, nahm dann an den beiden folgenden Tagen ab und stieg nach einer dreitägigen Beleuchtungspause wieder auf höhere Werte an. Ebenso verhielt sich die täglich entlassene Gesamtmenge der Zerkarien. Die höchste tägliche Ausscheidung war am 1. Tag und nach der dreitägigen Beleuchtungsrufe zu beobachten und erreichte Werte bis zu 151 Zerkarien pro Schnecke. Am 11. Ausscheidungstag entließen nur noch 2 der 5 Schnecken

7 bzw. 8 Zerkarien; am 14. Tag waren 3 Planorbis planorbis gestorben. Den 18. Ausscheidungstag überlebte keine der Schnecken. Ein bis drei Tage vor Eintritt des Todes sistierte bei allen Schnecken die Ausschüttung von Zerkarien.

Um nochmals zu überprüfen, ob die Schnecken bei täglich stimuliertem Zerkarienausstoß sehr früh sterben, wurden 8 Planorbis planorbis täglich zur Ausscheidung gebracht. Die Zerkarienmenge pro Tag entsprach derjenigen im vorausgegangenen Versuch. Alle Schnecken starben zwischen dem 12. und 18. Ausscheidungstag nach vorausgegangenem Sistieren des Ausstoßes für ein bis drei Tage (Tab. 7). Die bis zum Tod insgesamt ausgeschiedenen Zerkarien pro Schnecke erreichten Werte zwischen 112 und 393.

Tag der Zerkarien- Ausscheidung	Anzahl der täglich von den Schnecken Nr. 1-8 ausgeschiedenen Zerkarien							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1.	43	33	33	150	13	47	123	28
2.	28	11	11	67	8	29	78	12
3.	23	12	12	0	2	25	34	15
4.	*	*	5	0	3	10	0	3
5.	*	*	13	0	0	10	0	0
6.	*	*	*	*	*	*	*	*
7.	58	83	*	*	*	*	*	*
8.	18	30	38	3	87	65	98	48
9.	0	0	8	10	30	36	43	25
10.	8	18	0	19	10	15	17	0
11.	7	8	0	8	0	0	0	0
12.	*	*	<u>tot</u>	3	<u>tot</u>	<u>tot</u>	0	<u>tot</u>
13.	*	*		<u>tot</u>			<u>tot</u>	
14.	9	32						
15.	1	0						
16.	<u>tot</u>	0						
17.		0						
18.		<u>tot</u>						
Insgesamt Zerkarien	195	227	112	260	153	237	393	131

Tab. 7: Täglich ausgeschiedene Zerkarienmenge (Paramphistomum cervi) und Mortalität von 8 Planorbis planorbis (* Beleuchtungspause)

10 Schnecken wurden vom Zeitpunkt ihres 1. Ausscheidungstages an einmal wöchentlich starker künstlicher Beleuchtung ausgesetzt und während der übrigen Zeit in Dunkelheit gehalten. Die Beleuchtung begann um 9⁴⁰ Uhr und wurde ebenfalls 7 Stunden lang aufrechterhalten. Es sollte die Zerkarienmenge bei nur einer Beleuchtung pro Woche ermittelt werden.

Die Ausscheidungsmaxima betrugen 163-564 Zerkarien pro Schnecke und traten bei 6 Schnecken während der 4. und 5. Ausscheidungswoche auf; eine Schnecke schüttete erst in der 8. Woche die größte Zerkarienmenge aus. Der niedrigste wöchentliche Ausstoß lag bei 7-122 Zerkarien pro Schnecke und wurde bei 7 der 10 Schnecken in der ersten Woche erreicht. Die Ausscheidung lief also zunächst langsam an und erreichte ihre Maxima zwischen der 4. und 5. Ausscheidungswoche (Tab. 8). Vor Abschluß des Versuches waren bereits 4 Planorbis planorbis nach der 4., 5., 6. und 7. Ausscheidung gestorben. Bei Versuchsende enthielten noch alle Schnecken große Mengen reifer und unreifer Zerkarien in Hepatopankreas und Ootestis. Selbst die Schnecke Nr. 10, die 5 Wochen lang nicht zur Ausscheidung kam, beherbergte große Larvenmengen. Die über 8 Wochen ausgeschiedene Gesamtmenge pro Schnecke bewegte sich zwischen 2150 und 261 Zerkarien.

Woche der Zerkarien-Ausscheidung	Anzahl der wöchentlich von den Schnecken Nr. 1-10 ausgeschiedenen Zerkarien									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	<u>18</u>	<u>19</u>	<u>62</u>	196	<u>25</u>	<u>56</u>	162	<u>7</u>	<u>3</u>	79
2.	74	267	173	<u>122</u>	114	116	141	63	20	<u>163</u>
3.	185	206	205	-	211	324	232	<u>169</u>	196	-
4.	60	<u>346</u>	<u>547</u>	<u>564</u>	<u>398</u>	219	<u>100</u>	116	164	-
5.	92	258	255	tot	158	<u>505</u>	151	163	<u>212</u>	-
6.	<u>377</u>	174	396		tot	350	138	84	42	-
7.	133	30	291			235	137	tot	137	-
8.	159	tot	221			225	<u>388</u>		39	<u>19</u>
Insgesamt Zerkarien	1098	1300	2150	882	906	2030	1449	652	813	261

Tab. 8: Menge der einmal wöchentlich ausgeschiedenen Zerkarien von *Paramphistomum cervi* bei 10 experimentell infizierten *Planorbis planorbis* über einen Zeitraum von 8 Wochen nach einmaliger Beleuchtung/Woche
(— = Maximum --- = Minimum)

Die ausgeschiedenen Zerkarien schwammen zunächst lebhaft umher und enzystierten sich bei Beleuchtung mit zwei 100 Watt-Glühlampen, bei Wassertemperaturen von 25-28°C und in Gegenwart von Pflanzenteilen zu mehr als der Hälfte (ca. 60 %) innerhalb einer halben Stunde. Nach Ablauf einer Stunde waren auch die restlichen Zerkarien enzystiert. Bei fehlendem Pflanzenmaterial verzögerte sich die Enzystierung um einige Stunden. Auch bei einer Temperatur von 4°C und völliger Dunkelheit konnte ich beobachten, daß in der ersten halben Stunde 64 % der Zerkarien enzystiert waren und die restlichen nach einer Stunde. Zerkarien, denen kein pflanzliches Material zur Enzystierung angeboten wurde, setzten sich an jeder erreichbaren Oberfläche (Wand und Boden der Petrischale, Plastikfolienstreifen) und vereinzelt sogar an den Schneckenschalen ab. Der Einfall des Lichtes spielte hierbei eine große Rolle; die Schwanzlarven akkumulierten sich in der Regel an denjenigen Wandteilen der Petrischale nahe der Wasseroberfläche, die dem Licht am nächsten waren. Bei völliger Dunkelheit waren die meisten Metazerkarien am Boden der Petrischale zu finden.

Der überwiegende Teil der Metazerkarien war nicht diffus verteilt, sondern saß in engen Kolonien zusammen, gleich ob an Pflanzenteilen oder sonstigem Material. Die Zerkarien bevorzugten junge hellgrüne, noch relativ weiche Zyperngrasblätter als Enzystierfläche gegenüber vollausgewachsenen, dunkelgrünen und härteren Blättern.

Um die Vorliebe der Zerkarien von *P. cervi* für bestimmte Farben näher zu bestimmen, trug ich auf Wand und Boden von Glaspetrischalen gleichgroße und gleichviele gelbe und grüne Areale mit Wachsmalkreide von außen auf. Infizierte Planorbis planorbis wurden in diesen Gefäßen durch starke künstliche Beleuchtung (zwei 100 Watt-Glühlampen) zur Zerkarienausschüttung veranlaßt. Von insgesamt 696 ausgezählten Metazerkarien waren 619 (89 %) im gelben Farbbereich anzutreffen.

Bei einem Angebot von nur einem gelben Feld unter grünen, blauen und braunen Farbarealen enzystierten sich alle Zerkarien im gelben Bereich.

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Nach meinen Beobachtungen spielte sich das Hauptinfektionsgeschehen während der ersten 3 Stunden des Zusammenseins von Mirazidien und Zwischenwirten ab, da innerhalb dieser Zeitspanne 76-83 % der Wimperlarven aus dem "Infektionsbad" verschwunden waren. Auch um optimale Infektionsraten über 70 % zu erreichen, mußten die Schnecken den Mirazidien mindestens 3 Stunden ausgesetzt werden. Die Verlängerung der Infektionszeit um eine weitere Stunde erhöhte den Infektionserfolg nur noch um 1 %. Die experimentellen Infektionen wurden bei 26-28°C durchgeführt. Nach KRANEBURG (1977) überleben die Mirazidien bei dieser Temperatur nur 4-5 Stunden. Auch bei meinen Untersuchungen waren die nach 5 Stunden noch im Infektionsbad verbliebenen Mirazidien wenig aktiv; ein Eindringen der Larven in die Schnecke mit erfolgreicher Infektion erschien unmöglich. Ich stimme mit VARMA (1961) und DINNIK (1954) überein, die *Cotylophoron*- bzw. *P. sukari*-Mirazidien 4 Stunden lang mit den spezifischen Zwischenwirtschnecken zusammenbrachten. Eine Infektionszeit von 8 Stunden, wie sie LENGY (1960) für *P. microbothrium* einpflanzte oder gar von einem ganzen Tag, wie ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER (1979) für die experimentelle Infektion des Zwischenwirtes mit *P. cervi*-Mirazidien beschrieben, erscheint mir dagegen unnötig lang. Die Beobachtung von DINNIK und DINNIK (1957), daß bereits eine Stunde nach dem Zusammenbringen mit der spezifischen Zwischenwirtschnecke alle *P. sukari*-Mirazidien eingedrungen waren, kann ich für *P. cervi* nicht bestätigen; nach meinen Untersuchungen waren zu diesem Zeitpunkt erst 18-26 % der Wimperlarven aus dem "Infektionsbad" verschwunden. Ein Teil der Mirazidien konnte die Zwischenwirte jedoch schon nach einer halben Stunde penetrieren, da nach dieser Zeit immerhin schon 31,6 % der Schnecken infiziert waren.

Bei der Infektion von *Planorbis planorbis* mit Mirazidien von *P. cervi* reichte ein einziges Mirazidium nicht aus. Es kam erst ab einer Dosis von 25 Wimperlarven pro Schnecke zu dauerhaften Infektionen. Ich kann die von SCHMID (1980) ermittelte Mindestinfektionsdosis bestätigen, jedoch nicht die Angaben von ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER (1979), welche bei erfolgreichen Einzelinfektionen nur 1-3 Mirazidien zu-setzten. In ähnlicher Weise erreichten SLUITERS, BRUSSAARD-WÜST und MEULEMAN (1980) bei *Trichobilharzia ocellata* schon mit einem einzigen Mirazidium eine Infektion in jedem Falle. Dagegen konnte LENGY (1960) mit einem *P. microbothrium*-Mirazidium nur 8 % der spezifischen Zwischenwirtschnecken infizieren; mit 5 Mirazidien pro Schnecke wurde aber bereits eine Infektionsrate von 96 %, mit 10-20 Mirazidien pro Schnecke von 100 % erreicht. SAMNALIEV und VASSILEV (1979) verwendeten 10 *P. microbothrium*-Mirazidien für die Infektion von *Lymnaea stagnalis*.

Die Infektionsdosis für *Schistosoma japonicum* bei *Oncomelania hupensis* *nosophora* lag ebenfalls bei 10 Mirazidien pro Schnecke; bei *Oncomelania hupensis quadrasi* reichten dagegen schon 3 Mirazidien pro Schnecke aus (IWANAGA, 1976, 1977). Die von mir ermittelte Mirazidiendosis von *P. cervi* erscheint im Vergleich zu anderen Trematoden relativ hoch. Abgesehen davon, daß die experimentellen Infektionen der verschiedenen Autoren unter unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt wurden, kann bei der Infektion von *Planorbis planorbis* für die erforderliche hohe Infektionsdosis von Bedeutung sein, daß die Wimperlarven von *P. cervi* den "Engpaß" der Lungenapertur (Pneumostom) überwinden müssen; diese ist besonders bei älteren Schnecken nur sporadisch geöffnet (SOULSBY, 1965). Bei der Ermittlung der Infektionsdosis wurde auf die räumliche Begrenzung des Infektionsareales (Fächer einer Mikrotiterplatte) Wert gelegt, um allen Mirazidien einen möglichst kurzen Weg zur Zwischenwirtschnecke zu garantieren; allerdings sind

CHERNIN und DUNAVAN (1962) der Auffassung, daß die Entfernung der Mirazidien von dem Zwischenwirt von untergeordneter Bedeutung ist. Sie wiesen für *Schistosoma mansoni*-Wimperlarven eine sehr große Reichweite nach. Von *P. cervi*-Mirazidien war bisher lediglich bekannt, daß sie große Entfernungen zurücklegen können (SCHMID, 1980); es war allerdings nicht geklärt inwieweit große Distanzen zwischen Schnecke und Zwischenwirt den Infektionserfolg beeinträchtigen.

Ich konnte beobachten, daß sich mit steigender Mirazidien-dosis die Infektionsrate erhöhte; so erbrachten 1000 Mirazidien pro Schnecke bei 3-4 Monate alten *Planorbis planorbis* einen Wert von 80 %. BURGU (1980) machte ebenfalls diese Beobachtung; allerdings wirkte sich ein zu großes Mirazidienangebot negativ auf die Infektion aus. Ich kann dies bestätigen, da bei einer "Extremdosis" von 10 000 Mirazidien pro Schnecke nur 2 von 5 Schnecken infiziert wurden. Auch LO (1972) beschrieb ein Ansteigen der Infektionsrate mit der Mirazidienanzahl bei den Zwischenwirtschnecken von *Schistosoma haematobium* (70 % bei 60 Mirazidien pro Schnecke). LENGY (1960) sowie DINNIK und DINNIK (1954) beobachteten dieses Phänomen bei *P. microbothrium* ebenfalls. Ich konnte bis zu einer Mirazidienzahl von 500 pro Schnecke auch ein Anwachsen der durchschnittlichen Sporozystenanzahl auf 3,7-5,4 Sporozysten pro Schnecke beobachten; bei 1000 und 10 000 Mirazidien pro Schnecke nahmen diese Werte wieder ab. In der Atemhöhle einer Einzelschnecke, die 1000 Mirazidien ausgesetzt worden war, konnte ich am 7. Tag p.i. 12 Sporozysten feststellen; die durchschnittliche Sporozystenanzahl innerhalb der gesamten Gruppe lag bei dieser Dosis jedoch nur bei 2,7-3,2 pro Schnecke.

DINNIK und DINNIK (1954) beobachteten, daß sich bei mit *P. microbothrium* infizierten Schnecken gewöhnlich nur 1-4 Sporozysten entwickelten. Wurden die Zwischenwirtschnecken mehreren tausend Mirazidien ausgesetzt, so bildeten sich

8-13 Sporozysten pro Schnecke. Es liegt hier die Frage nahe, wieso bei diesen extrem hohen Mirazidiendosen nicht alle Schnecken infiziert wurden und keine größere durchschnittliche Sporozystenanzahl pro Zwischenwirt erreicht wurde.

CHERNIN und ANATOLICS (1975) stellten fest, daß bei der Infektion von *Biomphalaria glabrata* mit *Schistosoma mansoni* nur 40 % der zugesetzten Mirazidien infektionstüchtig waren; weitere 30 % der Wimperlarven sahen zwar morphologisch vollkommen intakt aus, konnten jedoch nicht in die Zwischenwirte eindringen. Den restlichen 30 % gelang zwar die Penetration der Schnecke, sie konnten sich aber nicht weiterentwickeln. Eine Erklärung hierfür hatten die Autoren nicht. LENGY (1960) sowie DINNIK und DINNIK (1954) beobachteten, daß ein beträchtlicher Anteil der *P. microbothrium*-Mirazidien von Schneckenkot und Schneckenschleim angezogen wurde; dabei führten sie zwar Bohr- und Suchbewegungen aus, ignorierten aber die Zwischenwirtschnecke völlig. Auch eine aktive Abwehr der Schnecken gegen die Mirazidieninvasion wurde beobachtet. Sie kontrahierten ihren Körper krampfartig und zogen sich ins Gehäuse zurück. Durch die dabei entstandene Wasserströmung wurden die bereits angehefteten Wimperlarven zum Teil wieder losgerissen.

LO (1972) erreichte bei der Infektion von narkotisierten *Bulinus*-arten mit *Schistosoma haematobium* Infektionsraten von 81 %. Er führte dies unter anderem auf die unterdrückte Schleimsekretion während der Betäubung und der damit verbundenen geringeren Ablenkung der Mirazidien zurück. Allgemein liegen unter natürlichen Bedingungen vermutlich die Infektionsraten weitaus niedriger als bei experimenteller Exposition. ODENING (1971) fand in Leberegel-Endemiegebieten nur in 4-6 % der Schnecken Entwicklungsstadien von *Fasciola hepatica*. Eine hohe Infektionsrate der Schnecken spielt im Hinblick auf den Befall des Endwirtes eine untergeordnete Rolle; in der Türkei betrug die natürliche Infektionsrate

der Zwischenwirte von *P. cervi* durchschnittlich nur 1,57 %, dagegen beherbergten aber 80,76 % der Schlachtschafe der gleichen Gegend den Parasiten (BURGU, 1980).

In meinen Versuchen waren infizierte *Planorbis planorbis*, die Sporozysten oder Redien und reife Zerkarien beherbergten einer Superinfektion zugänglich. Wurde die Zweitinfektion bereits 4 Tage nach der ersten gesetzt, konnte die genaue Infektionsrate nicht ermittelt werden; nach einem so kurzen Zeitabstand lassen sich die Larvenstadien der ersten oder zweiten Infektion nicht unterscheiden. Die größere durchschnittliche Sporozystenanzahl pro Schnecke bei den zweimal infizierten *Planorbis planorbis* wies jedoch auf eine mögliche Superinfektion hin. Auch 49 Tage nach der Primärinfektion ließen sich Schnecken erneut infizieren (Infektionsrate von 37,5 %); dabei handelte es sich schon um mindestens 2 1/2 Monate alte Schnecken. Der Infektionserfolg der Superinfektion war geringer als der von Erstinfektionen gleichaltriger Schnecken (Infektionsrate: 61-70 %). Nach ODENING (1971) sind Superinfektionen bei den Zwischenwirten von *Fasciola hepatica* ebenfalls möglich.

Bei meinen Untersuchungen traten innerhalb der Art *Planorbis planorbis* Unterschiede in der Empfänglichkeit auf, wobei Alter und lokale Herkunft der Schnecken von Bedeutung waren. 4 Wochen alte Schnecken zeigten am 7. Tag p.i. Infektionsraten von 84 %, ältere (über 4 Monate) dagegen nur von 33 %. Auch nach BURGU (1980) ließen sich kleine und mittelgroße *Planorbis planorbis* sehr gut mit Mirazidien von *P. cervi* infizieren; allerdings war ihre Mortalität beträchtlich. ALTAIF und Mitarb. (1978) erreichten bei experimentellen Infektionen von 4 Wochen alten *Bulinus truncatus* Infektionsraten von 80 %, bei 2-3 Monate alten Schnecken dagegen nur von 25 %. SWART und REINECKE (1962) konnten bei 7-21 Tage alten *Bulinus tropicus* sogar Infektionsraten von 100 % mit Mirazidien von *P. microbothrium* ermitteln; dagegen gelang bei alten Schnecken die Infektion nur bei 12,4 %.

Nach SOULSBY (1965) sind junge Schnecken deshalb empfänglicher für Paramphistomum-Infektionen, weil ihre Atemhöhle vollkommen mit Wasser angefüllt und die Lungenapertur (Pneumostom) permanent geöffnet ist; dadurch können Mirazidien ungehindert eindringen. Das durch die Zilienbewegung des respiratorischen Epithels ständig in Zirkulation gehaltene Wasser stellt das Transportmedium der Mirazidien zum Manifestationsort dar. Dagegen ist bei älteren Schnecken die Atemhöhle teilweise oder ganz mit Luft gefüllt; außerdem öffnet sich das Pneumostom nur, wenn die Schnecke Luft an die Wasseroberfläche abgibt. LENGY (1960) mißt dem Alter und der Größe der Zwischenwirtschnecke von *P. microbothrium* keine Bedeutung für den Erfolg einer Infektion zu. IWANAGA (1976) konnte sogar ermitteln, daß die Infektionsrate bei der Infektion von *Oncomelania hupensis* *nosophora* mit Mirazidien von *Schistosoma japonicum* mit der Größe der Schnecke steigt.

Unterschiedliche Infektionsergebnisse innerhalb der Art *Planorbis planorbis* konnte ich bei Schnecken verschiedener lokaler Herkunft ermitteln. Unser schon seit mehreren Jahren im Labor gezüchtete Schneckenstamm erwies sich als weitaus empfänglicher als frische "Wildfänge" aus dem Allgäu und Vertreter derselben Art aus der Gegend um Ankara/Türkei. Auch KRANEBURG (1977) stellte fest, daß individuelle Unterschiede in der Empfänglichkeit nicht nur bei verschiedenen *Planorbis*-arten, sondern auch bei der gleichen Species von unterschiedlichen Fundorten bestanden. Die von mir ermittelten sehr differierenden Infektionsergebnisse der 3 "Schneckenstämme" lassen sich eventuell mit einer gewissen Adaptation durch die mehrjährige Laborhaltung erklären. Auch eine lokale Zwischenwirt-Parasit-Spezifität könnte den unbefriedigenden Infektionserfolg der aus der Türkei stammenden *Planorbis planorbis* mit unserem süddeutschen *P. cervi*-Stamm aufzeigen. Interessant sind hierzu Betrachtungen von LO (1972). Er

untersuchte die Eignung zahlreicher Bulinusarten und -unterarten aus verschiedenen Teilen Afrikas als Zwischenwirt des ägyptischen *Schistosoma haematobium*-Stammes. Dabei war der Zuchtstamm von *Bulinus truncatus* aus Ägypten mit einer Infektionsrate von 3 % unempfindlicher als die anderen überprüften Arten.

Meine Untersuchungen haben ferner gezeigt, daß ein Chaetogasterbefall von Laborschnecken das Infektionsergebnis erheblich verschlechtert. Infektionsrate und durchschnittliche Sporozystenanzahl pro Schnecke waren niedriger als bei einer chaetogasterfreien Kontrollgruppe. REINHARDT (1969), der das Vorkommen der in der Mantelhöhle und auf den Weichteilen von Süßwasserschnecken lebenden kleinen Ringelwürmer beschrieb, konnte beobachten, daß die Oligochaeten die Zwischenwirtschnecken wirksam vor mancher Trematodeninfektion schützten, indem sie die sich nähernden Mirazidien fraßen. ODENING (1971) weist darauf hin, daß nicht nur Mirazidien, sondern auch ausschwärmende Zerkarien von *Chaetogaster* sp. aufgenommen werden. Er sieht in starkem *Chaetogaster*befall sogar eine biologische Bekämpfungsmöglichkeit gegen die Infektion des Zwischenwirtes. Interessanterweise waren nur unsere Laborzuchten, nicht aber die von mir gesammelten frischen "Wildfänge" aus dem Allgäu und die *Planorbis planorbis* aus der Gegend um Ankara, stark mit dem Oligochaeten befallen. Will man große Mengen Metazerkarien für die artifizielle Infektion von Endwirten gewinnen, sollten die Schnecken einige Tage vor der Infektion von den Oligochaeten befreit werden.

Die Infektion von *Planorbis planorbis* mit *P. cervi* ist ein ausgezeichnetes Modell für das Studium der Entwicklung von Trematoden im Zwischenwirt, da die Larvenstadien in den flachen, durchsichtigen Tellerschnecken *in vivo* schon mit Lupenvergrößerung, besonders bei sehr jungen, noch wenig

pigmentierten Schnecken, gut zu beobachten sind. Bereits am 1. Tag p.i. konnte der Infektionserfolg anhand von unreifen Sporozysten beurteilt werden. Dagegen können z.B. die Larvenstadien von *Schistosoma mansoni* und *Schistosoma japonicum* in den betreffenden Zwischenwirten *Biomphalaria glabrata* und *Oncomelania hupensis* nur im Quetschpräparat nachgewiesen werden (pers. Mitteilung BERGLER).

Die Entwicklung im Zwischenwirt ist bei allen Amphistomiden temperaturabhängig. Das von mir ermittelte erste Auftreten der einzelnen Stadien bei verschiedenen Temperaturen läßt sich oft schlecht mit den Ergebnissen anderer Autoren vergleichen; diese arbeiteten zum Teil bei sehr großen Temperaturschwankungen bzw. geben nur unter "Laborbedingungen" (BURGU, 1980) oder bei "Zimmertemperatur" (ALTAIF und Mitarb., 1978) an. Ich konnte bei einer Wassertemperatur von 16-17°C nach 9 Tagen erstmals reife Sporozysten beobachten, die ab dem 23. Tag p.i. Redien entließen. Unreife Zerkarien befanden sich vom 85. Tag p.i. an in Hepatopankreas und Ovotestis; der erste Ausstoß erfolgte am 110. Tag.

Die Larvenentwicklung verkürzte sich bei höheren Temperaturen ganz erheblich. Bei 27-30°C waren reife Sporozysten schon am 4. Tag p.i., freie Redien bereits am 6. Tag p.i. in der Atemhöhle anzutreffen. Am 22. Tag p.i. zeigten sich erstmals unreife Zerkarien in der Mitteldarmdrüse und im Ovotestis; sie wurden nach 5 weiteren Tagen ausgestoßen. Für die Haltung experimentell infizierter Planorbis planorbis erscheint mir eine Wassertemperatur von 25°C am geeignetsten; auch in den natürlichen Biotopen bei uns in der BRD werden kaum höhere Temperaturen erreicht. Bei 27-30°C war die Entwicklung stark verkürzt und lief heftiger ab, sodaß die Mortalität besonders bei jungen infizierten Schnecken anstieg.

Infizierte Schnecken waren zum Teil in der Lage, die Infektion mit *P. cervi* zu überwinden. So zeigte sich bei

einem Versuch, daß 16 % der über 4 Monate alten Planorbis planorbis innerhalb von 4 Wochen p.i. die Infektionsmerkmale vollständig zurückbildeten; bei den 4-12 Wochen alten Zwischenwirtschnecken konnten sich nur 7-8 % vom Parasiten reinigen. Nach Beobachtungen von SCHMID (1980) konnten 20-30 % der infizierten Schnecken die Weiterentwicklung der Wimperlarven von *P. cervi* zu Zerkarien unterbinden.

Bei der Sektion infizierter Planorbis planorbis konnte ich, wie auch BURGU (1980) niemals Entwicklungsstadien von *P. cervi* in Kopf, Fuß und Tentakeln der Schnecken finden. Die Mirazidien penetrierten hier nicht, sondern gelangten stets über das Pneumostom in die Atemhöhle; dort wandelten sie sich im respiratorischen Epithel zu Sporozysten um. Diese enthielten nie mehr als 3-4 vollausgebildete kurz vor dem Schlupf stehende Redien neben embryonalen Redien und einem Reservoir an bis zu 12 Keimballen; es waren also nie mehr als 3-4 Redien gleichzeitig reif und wurden entlassen. Auch LENGY (1960) machte die Beobachtung, daß Redien von *P. microbothrium* schubweise aus den Sporozysten frei werden. Bei einer Wassertemperatur von 25°C konnte ich schon am 11. Tag p.i. vereinzelt freie Redien erkennen; degenerierte, leere Sporozysten fand ich erstmals am 42. Tag p.i.. Demnach werden über einen Zeitraum von mindestens 31 Tagen ständig Redien entlassen. Der erste Zerkarienausstoß erfolgte bereits am 33. Tag p.i..

TAKAHASHI (1928) beschrieb 9 Redien in einer Sporozyste von *P. cervi*. Nach KRANEBURG (1977) enthielten ältere Sporozysten eine unterschiedliche Zahl von Keimballen und Redien (8-12). BURGU (1980) bestätigte diese Angaben. Meinen Beobachtungen nach werden selten mehr als 12-15 Redien pro Sporozyste gebildet. Dagegen scheinen *P. microbothrium*-Sporozysten erheblich mehr Redien entlassen zu können. DINNIK (1964 b) stellte fest, daß sich die Larvenentwicklung von *P. microbothrium* von der anderer Paramphistomiden

durch ihre große Produktivität in allen Stadien unterscheidet. LENGY (1960) vertritt die Meinung, je später eine Sporozyste von *P. microbothrium* Redien entläßt und je größer sie wird, desto höher ist die von ihr produzierte Redienmenge. Er zählte in einer 3490 x 550 μ m großen Sporozyste am 34. Tag p.i. 87 Redien und diverse Keimballen.

In frisch aus den Sporozysten geschlüpften Redien konnte ich schon 8-10 Keimballen erkennen. Sie waren im Gegensatz zu älteren, bereits im Hepatopankreas befindlichen Redien stark beweglich. Über 1 mm große Redien enthielten bis zu 15 Keimballen und im distalen Teil der Körperhöhle zahlreiche Keimzellen. Es ist nicht anzunehmen, daß aus einer Redie nur insgesamt 15 Zerkarien entlassen werden, da ständig weitere Keimballen nachproduziert werden.

ODENING, BOCKHARDT und GRÄFNER (1978, 1979) fanden bei *P. cervi* keine Tochterredien. Im Gegensatz dazu gelang mir der Nachweis in Schnecken bei Wassertemperaturen von 18° und 25°C. Allerdings muß ich die Beobachtungen von KRANEBURG und HASSLINGER (1976) bestätigen, daß Tochterredien nur vereinzelt auftreten. BURGU (1980) vertritt die Ansicht, daß bei *P. cervi* niedrige Temperaturen nicht den alleinigen Stimulus für die Tochterredienbildung darstellen, wie es für *Fasciola gigantica* bekannt ist (DINNIK und DINNIK, 1964). Für *P. microbothrium*, *P. sukari* und *P. phillerouxi* wurden mehrere Tochterrediengenerationen beschrieben (DINNIK und DINNIK, 1954, 1957; DINNIK, 1961); dies scheint bei *P. cervi* nicht die Regel zu sein.

WILSON und DRASKAU (1976) beobachteten eine Erhöhung der Tochterredienproduktion bei *Fasciola hepatica* durch Hungerperioden der Zwischenwirtschnecken und Temperaturschocks während der ersten 16 Tage p.i.. Nach BURGU (1980) spielten jahreszeitliche Einflüsse für die Tochterredienbildung bei *P. cervi* kaum eine Rolle, sondern die Lokalisation in der Schnecke; sie fand Tochterredien im lateralen Teil der

Mantelhöhle.. Ich konnte dagegen auch in einer Mutterredie, die aus dem Hepatopankreas einer Planorbis planorbis isoliert wurde, Tochterredien nachweisen. Da ich insgesamt nur zweimal Tochterredien fand, scheinen sie bei Temperaturen von 18° und 25°C bei *P. cervi* sehr selten aufzutreten; vielleicht sind die Haltungsbedingungen für Schnecken im Labor optimal, sodaß der Reiz zur Tochterredienproduktion fehlt.

Schnecken, die täglich durch künstliche Beleuchtung zur Ausschüttung von Zerkarien gezwungen wurden, entließen maximal 151 Zerkarien am 1. Ausscheidungstag. An den folgenden Tagen nahm die Zerkarienmenge stark ab und sistierte bei manchen Schnecken für 1-2 Tage. Nach einer 2-3-tägigen Beleuchtungsruhe setzte die Ausschüttung wieder verstärkt ein. Das völlige Erliegen des Zerkarienausstoßes war kein Anzeichen für einen Rückgang der Infektion; es konnten nicht schnell genug reife Zerkarien nachproduziert werden. ALBARET und Mitarb. (1978) konnten bei mit *P. togolense* infizierten *Bulinus forskalii* nie mehr als eine Ausscheidung pro Woche auslösen. Der tägliche Zerkarienausstoß scheint für den Zwischenwirt einen erheblichen Stress darzustellen, da innerhalb von 12-18 Tagen alle Schnecken abstarben. Die reifen Zerkarien sammelten sich vor ihrer Ausschüttung um den Darm an und verließen die Zwischenwirtschnecken in Anusgegend, was möglicherweise mit erheblichen Gewebeläsionen verbunden ist. Auch DINNIK und DINNIK (1954) berichteten, daß mit *P. microbothrium* infizierte Schnecken nach 10-11 Ausscheidungstagen starben.

Bei einmal wöchentlicher Ausschüttung wurden größere Zerkarienmengen entlassen (maximal 564 pro Schnecke); auch überlebten die Schnecken länger. Die von mir ermittelten Werte liegen über denjenigen von KRANEBURG (1977), der nur bis zu 240 Zerkarien pro Schnecke bei einmaligem Ausstoß

pro Woche beobachtete. Um größtmögliche Mengen an Metazerkarien für experimentelle Infektionen von Endwirten zu gewinnen, ist es ratsam, die Schnecken nur einmal wöchentlich ausscheiden zu lassen. Bei täglich stimuliertem Ausstoß wurden bis zum Tode der Schnecken maximal 393 Schwanzlarven pro Schnecke entlassen. Bei einmal wöchentlicher Ausschüttung dagegen konnten aus einzelnen Schnecken bei insgesamt 8 Beleuchtungen 2030 Zerkarien gewonnen werden; nach dieser Zeit waren immerhin 6 von 10 Planorbis planorbis am Leben, die noch große Mengen reifer und unreifer Larven beherbergten.

Zerkarien bevorzugten zur Enzystierung junge, hellgrüne, noch relativ weiche Zyperngrasblätter. Auch nach VARMA (1961) zogen Zerkarien von *Cotylophoron cotylophorum* weiche, saftige Gräser behaarten oder dornigen Pflanzen vor. Zerkarien zogen bei meinen Untersuchungen gelbe Farbbereiche eindeutig solchen grüner Farbe vor und waren sogar in der Lage, sich beim Angebot mehrerer Farben selektiv auf dem gelben Areal zu enzystieren. Auch DURIE (1955) beobachtete, daß Schwanzlarven von *Ceylonocotyle streptocoelium* und *P. ichikawai* bei fehlendem Pflanzenmaterial von gelben Farbstrichen an den Seiten eines Gefäßes angezogen wurden. Dagegen übte gelbes Licht keine Anziehung auf *Fasciola hepatica*-Zerkarien aus, obwohl sie ebenso wie die amphistomen Zerkarien grüne Pflanzen zur Enzystierung benötigen. DURIE (1955) ist der Meinung, daß das gelbe Licht auf die Augpunkte wirkt, die nur bei der *Paramphistomum*-Zerkarie, nicht aber bei *Fasciola hepatica*-Schwanzlarven ausgebildet sind. LENGY (1960) stellte fest, daß die Enzystierung bei *P. microbothrium* mehr auf optische als auf chemische Reize hin erfolgt. Die *P. microbothrium*-Zerkarien reagierten auf kurze Wellenlängen im Bereich des sichtbaren Lichtes.

Im Gegensatz zur Infektion der Schnecken, bei der eine weite Verteilung der Wimperlarven von Vorteil ist, gewähr-

leistet die kolonienartige Konzentrierung der Metazerkarien auf den Pflanzen eine massenhafte Aufnahme durch den Endwirt. Zum Angehen einer Infektion beim Rind sind 10 000 Metazerkarien erforderlich (KRANEBURG und BOCH, 1978).

V. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Entwicklung des Pansenegels *Paramphistomum cervi* in experimentell infizierten Zwischenwirtschnecken (*Planorbis planorbis*) untersucht.

Mirazidien drangen vornehmlich in den ersten 3 Stunden in die Schnecke ein, wobei mindestens 25 Wimperlarven ein Angehen der Infektion sicherten. Mit steigender Mirazidienzahl erhöhte sich die Infektionsrate, die vom Alter, der Herkunft und vom *Chaetogaster*-befall der Schnecken beeinflusst wurde. Superinfektionen waren möglich.

Bei optimaler Wassertemperatur von 25°C waren am 1. Tag p.i. unreife, am 5. Tag p.i. reife Sporozysten in der Atemhöhle zu beobachten. Freie Redien traten ab dem 11. Tag p.i. auch im Bereich um den Darm auf. Hepatopankreas und Ovotestis beherbergten erstmals am 25. Tag p.i. unreife Zerkarien, die als reife Formen vom 33. Tag p.i. an die Schnecken verließen. Tochterredien traten nur selten auf.

Der Zerkarienausstoß erfolgte innerhalb von 6 Stunden nach Beleuchtungsbeginn. Bei täglich stimulierter Ausscheidung wurden maximal 151 Zerkarien pro Schnecke entlassen; alle Zwischenwirte starben zwischen dem 12. und 18. Ausscheidungs-tag. Bei einmal wöchentlichem Ausstoß betrug die maximale Zerkarienmenge pro Schnecke 564; dabei überlebten 60 % der Zwischenwirte länger als 8 Wochen. Sowohl bei Beleuchtung als auch bei Dunkelheit waren alle Zerkarien innerhalb einer Stunde enzystiert. Sie bevorzugten gelbe Farbareale als Enzystierfläche und waren überwiegend in Kolonien gruppiert.

Rückrich, Hilde-Ute: Investigation on the development of *Paramphistomum cervi*, Zeder 1790 in the intermediate snail-host *Planorbis planorbis*

SUMMARY

The development of the stomach-fluke *Paramphistomum cervi* was investigated in experimentally infected snail-hosts (*Planorbis planorbis*).

Most miracidia penetrated the snail within the first 3 hours. At least 25 miracidia were necessary for a successful infection. The rate of infection increased with the number of miracidia used and, in addition, depended on age, local origin of the snails and *Chaetogaster limnaei* infestation. Superinfections were possible.

At an optimal water temperature of 25°C immature sporocysts were already detected in the respiratory cavity on the first day and mature stages on the fifth day after infection. Earliest detection of free rediae in the respiratory cavity and around the digestive tract was possible eleven days after exposure to miracidia. Hepato-pancreas and ovotestis contained immature cercariae 25 days after infection. The snails started shedding mature cercariae 33 days after infection. Daughter rediae were only observed occasionally.

The shedding of cercariae occurred within the first 6 hours of exposure to light. When the shedding was stimulated daily, a maximum of 151 cercariae left a single *Planorbis planorbis*; all snail-hosts died between the 12th and 18th day. When cercariae were shed only once a week after light exposure, up to 564 per snail were counted, while 60 % of the snail-hosts survived more than 8 weeks. Independently, whether the cercariae were exposed to light or kept in darkness, all cercariae were encysted within one hour. Encysted cercariae were found mainly in colonies on yellow backgrounds.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- Abdel Ghani, A.F. (1960): The cercaria and the metacercaria of *Paramphistomum cervi*.
Agric. Res. Rev., Cairo 38, 237-243
- Albaret, J.-L., C. Bayssade-Dufour, J. Guilhon, S.D. Kulo, H. Picot (1978): Cycle biologique de *Paramphistomum togolense* n. sp. (Trematoda, Paramphistomidae).
Ann. Parasit. 53, 495-510
- Altaif, K.I., S.N. Al-Abbassy, I.M. Al-Saqr, A.K. Jawad (1978): Experimental studies on the suitability of aquatic snails as intermediate hosts for *Paramphistomum cervi* in Iraq.
Ann. trop. Med. Parasit. 72, 151-155
- Arfaa, F. (1962): A study on *Paramphistomum microbothrium* in Khuzistan S.W. Iran.
Ann. Parasit. hum. comp. 37, 549-555
- Arru, E., S. Deiana, P. Muzzetto (1970): Paramphistomosi intestinale dei ruminanti. Infestazione sperimentale degli ovini con metacercarie ed esemplari immaturi di *Paramphistomum cervi* (Schränk, 1790).
Riv. Parassit. 31, 33-42
- Bennett, H.J. (1936): The life history of *Cotylophoron cotylophorum*, a trematode from ruminants.
Illinois Biol. Monog. 14, 1-119
- Bhattacharyula, Y., B.P. Pande (1969): On a collection of adult amphistomes in sheep. A specific evaluation.
Indian J. Anim. Sci. 39, 321-331
- Boray, J.C. (1959): Studies in intestinal amphistomosis in cattle.
Aust. vet. J. 35, 282-287
- Burgu, A. (1980): Eskişehir Çifteler Harası Yöresinde, Koyunlarda *Paramphistomum cervi* Schränk 1790 'nin Biyolojisi Üzerinde çalışmalar.
Doçentlik Tezi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
- Caeiro, V.M.P. (1961): Acerca de alguns *Paramphistominae* não assinalados em territórios portugueses.
Rev. Cienc. vet. (Lisboa) 56, 68-106

- Chernin, E., C.A. Dunavan (1962): The influence of host-parasite dispersion upon the capacity of *Schistosoma mansoni* miracidia to infect *Australorbis glabratus*.
Am. J. trop. Med. Hyg. 11, 455-471
- Chernin, E., V.M. Anatolics (1975): Penetrative capacity of *Schistosoma mansoni* miracidia.
J. Parasit. 63, 560-561
- Dinnik, J.A. (1954): *Paramphistomum sukari* n. sp. from Kenya cattle and its intermediate host.
Parasitology 44, 414-421
- Dinnik, J.A. (1961): *Paramphistomum phillerouxi* sp. nov. (Trematoda: Paramphistomidae) and its development in *Bulinus forskalii*.
J. Helminth. 35, 69-90
- Dinnik, J.A. (1962): *Paramphistomum daubneyi* sp. nov. from cattle and its snail host in the Kenya Highlands.
Parasitology 52, 143-151
- Dinnik, J.A. (1964 a): *Paramphistomum sukumum* sp. nov. and other stomach-flukes from cattle in the Sukumaland area of the Lake Region, Tanganyika.
Parasitology 54, 201-208
- Dinnik, J.A. (1964 b): Intestinal paramphistomiasis and *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder in Africa.
Bull. epizoot. Dis. Afr. 12, 439-454
- Dinnik, J.A., N.N. Dinnik (1954): The life cycle of *Paramphistomum microbothrium* Fischoeder, 1901 (Trematoda: Paramphistomidae).
Parasitology 44, 285-299
- Dinnik, J.A., N.N. Dinnik (1957): Development of *Paramphistomum sukari* Dinnik, 1954 (Trematoda: Paramphistomidae) in a snail host.
Parasitology 47, 209-216
- Dinnik, J.A., N.N. Dinnik (1964): The influence of temperature on the succession of redial and cercarial generations of *Fasciola gigantica* in a snail host.
Parasitology 54, 59-65
- Durie, P.H. (1953): The paramphistomes (Trematoda) of Australian ruminants. II. The life history of *Ceylonocotyle streptocoelium* (Fischoeder) Näsmark and of *Paramphistomum ichikawai* Fukui.
Aust. J. Zool. 1, 193-222

- Durie, P.H. (1955): A technique for the collection of large numbers of paramphistome (Trematoda) metacercariae. Aust. J. Agric. Res. 6, 200-202
- Dwaronath, A. (1966): Untersuchungen über ektogene Helminthenstadien. 3. Experimentelle Untersuchungen über die Lebensdauer der Mirazidien von *Fasciola hepatica* unter Berücksichtigung verschiedener äußerer Einflüsse. Angew. Parasit. 7, 31-38
- Fischöeder, F. (1901): Die Paramphistomiden der Säugethiere. Zool. Anz. XXIV, 367-375
- Gluzman, I.Y. (1967): Technique for obtaining paramphistome metacercariae for experimental purposes. Veterinariya, Kiev 11, 44-46
- Gluzman, I.Y., Y.G. Artemenko (1969): Experimental infection of calves with *Liorchis scotiae*. Tr. Inst. Gel'mintol. 15, 87-91
- Gottschalk, C. (1962): Zur Verbreitung des Leberegels, des Lanzettegels und des Pansenegels in den thüringischen Bezirken Erfurt und Gera. Angew. Parasit. 3, 101-108
- Graber, M., J.-A. Euzeby, J.-P. Gevrey (1980): Présence en France de *Paramphistomum leydeni* Näsmark, 1937 (Trematoda: Paramphistomata). Ann. Parasit. 55, 565-569
- Güralp, N. (1974): Helmintholoji. Vet. Fak. Yayın. Ankara Üniv.
- Horak, I.G. (1967): Host-parasite relationship of *Paramphistomum microbothrium* Fischöeder, 1901, in experimentally infested ruminants, with particular reference to sheep. Onderstepoort J. vet. Res. 34, 451-540
- Iwanaga, Y. (1976): Observations on the susceptibility of *Oncomelania* spp. to *Schistosoma japonicum*, Yamanashi strain. 1. The rates of infection and survival of laboratory colonies of *Oncomelania hupensis* nosophora, Yamanashi strain. Jap. J. Parasit. 25, 59-68
- Iwanaga, Y. (1977): Studies on the laboratory breeding and infectivity of *Oncomelania hupensis* quadrasi. Hiroshima J. med. Sci. 26, 29-34

- Jacob, E. (1950): Parasitologische Notizen 17. Pansenegelbefall (*Paramphistomum cervi*) bei einem Schaf. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 12, 268
- Kadhim, J.K., K.I. Altaif (1970): The experimental demonstration of *Lymnaea lagotis euphratica* as an intermediate host of *Fasciola gigantica* in Iraq. Ann. trop. Med. Parasit. 64, 335-337
- Kamburov, P. (1976): On the species of paramphistomids occurring in Europe. Third internat. Symp. helminthol. Inst. Kosice 12.-15. 10. 1976
- Katiyar, R.D., T.R. Varshney (1961): Amphistomiasis in sheep and goats in Uttar Pradesh. Indian J. vet. Sci. 33, 94-98
- Kilius, R., W. Frick (1963): Die Zwischenwirtsschnecken wichtiger einheimischer Haus- und Nutztier-Helminthen. I. Teil. Funktionen, Beschreibung und Biologie der Zwischenwirtsschnecken. Angew. Parasit. 4, 65-99
- Kiselev, N.P. (1967): The biology of *Paramphistomum ichikawai* Fukui. Veterinariya, Moscow 44, 51-53
- Kraneburg, W. (1977): Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi*. 1. Entwicklungsstadien in der Außenwelt und im Zwischenwirt. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 316-320
- Kraneburg, W. (1978): Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi*. 2. Vorkommen bei Weiderindern in Marschgebieten. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 46-48
- Kraneburg, W., M.-A. Hasslinger (1976): Untersuchungen zu Biologie und Vorkommen einheimischer Pansenegel. Z. Parasitenkd. 50, 215-216
- Kraneburg, W., J. Boch (1978): Beiträge zur Biologie und Pathogenität des einheimischen Pansenegels *Paramphistomum cervi*. 3. Entwicklung in Rind, Schaf und Reh. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 91, 71-75
- Krull, W.H. (1934): Life history studies on *Cotylophoron cotylophorum* (Fischöder, 1901) Stiles and Goldberger, 1901. J. Parasit. 20, 173-180

- Lengy, J. (1960): Study on *Paramphistomum microbothrium* Fisch-oeder, 1901. A rumen parasite of cattle in Israel.
Bull. Res. Coun. Israel B. 9, 71-130
- LO, C.-T. (1972): Compatibility and host-parasite relations between species of the genus *Bulinus* (Basommatophora: Planorbidae) and an Egyptian strain of *Schistosoma haematobium* (Trematoda: Digenea).
Malacologia 11, 225-280
- Mereminskij, A.I., I.J. Gluzman, J.G. Artemenko (1971):
Paramfistomatidoz krupnogo rogatogo skota na Ukraine.
Sborn. Rab. po Gel'mintol., 217-222
- Näsmark, K.E. (1937): A revision of the trematode family
Paramphistomidae.
Zoologiska Bidrag Uppsala 16, 301-565
- Odening, K. (1971): Der große Leberegel und seine Verwandten.
Die neue Brehm-Bücherei, A. Ziemsen Verlag, Wittenberg-Lutherstadt
- Odening, K., G. Gräfner (1979): Zum systematischen Erforschungsstand der *Paramphistomum*-Arten (Trematoda) in Europa.
Mitt. Zool. Mus. Berlin 55, 271-290
- Odening, K., I. Bockhardt, G. Gräfner (1978): Zur Frage der Pansenegelarten in der DDR (Trematoda: *Paramphistomidae*) und ihrer Zwischenwirtsschnecken.
Mh. Vet.-Med. 5, 179-181
- Odening, K., I. Bockhardt, G. Gräfner (1979): Zwischenwirtsspezifität, Cercarien- und Eimerkmale der drei einheimischen *Paramphistomum*-Arten (Trematoda).
Zool. Jb., Syst. 106, 214-241
- Pav, J. (1962): *Paramphistomum cervi* (Schrank 1790) u nasi spárkaté zvere.
Sborník Československé Akademie Zemedelských
Ved. Veterinární Medicina 35, 161-166
- Pitchford, R.J., A.H. Meyling, J. Meyling, J.F. du Toit (1969):
Cercarial shedding patterns of various schistosome species under outdoor conditions in the Transvaal.
Ann. trop. Med. Parasit. 63, 359-371
- Reinhardt, S. (1969): Zur Entwicklung, Anatomie und Histologie von *Paramphistomum microbothrium* (Trematoda, Digenea).
Rer. nat.-Diss., Bonn

- Reinhardt, S. (1970): Wie groß ist die Bedeutung von Pansen-egeln in Deutschland?
Schlacht- und Viehhof-Ztg. 70, 350-353
- Saladin, K.S. (1979): Behavioural parasitology and perspectives on miracidial host-finding.
Z. Parasitenkd. 60, 197-210
- Samnaliev, P. (1980): Morphologic and biologic differences between larvae and parthenites of *Paramphistomum microbothrium* and *P. microbothrioides*.
Proc. III. European multicolloquium Parasit. 197, Cambridge, 7.-13. 9. 1980
- Samnaliev, P., J. Vassilev (1979): The influence of temperature on penetration of *Lymnaea truncatula* by *Paramphistomum microbothrium* miracidia.
Symposium Ges. Parasit., Mollusken als Zwischenwirt, Würzburg, 4.-7. 4. 1979
- Schmid, K. (1980): Schlupfbedingungen sowie Wirtfindungsverhalten der Mirazidien von *Paramphistomum cervi* an *Planorbis planorbis*. Ein Beitrag zur Entwicklung von *Paramphistomum cervi*.
Vet. med.-Diss., München
- Sey, O. (1974): On the species of *Paramphistomum* of cattle and sheep in Hungary.
Acta vet. Acad. Sci. hung. 24, 19-37
- Sey, O. (1978): Examination of rumen flukes (Trematoda: *Paramphistomata*) of cattle in Rumania.
Parasit. Hung. 11, 23-25
- Sey, O., E. Arru (1977): A review of species of *Paramphistomum* Fischoeder, 1901 occurring in Sardinian domestic ruminants.
Riv. Parassit. 38, 295-301
- Seyfarth, M. (1938): Pathogene Wirkung und innerer Bau von *Paramphistomum cervi*.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 46, 515-518
- Sluiter, J.F., C.M. Brussard-Wüst, E.A. Meuleman (1980): The relationship between miracidial dose, production of cercariae, and reproductive activity of the host in the combination *Trichobilhazia ocellata* and *Lymnaea stagnalis*.
Z. Parasitenkd. 63, 13-26

- Soulsby, E.J.L. (1965): Textbook of veterinary clinical parasitology. Volume I. Helminths.
Blackwell Scientific Publications, Oxford
- Swart, P.J., R.K. Reinecke (1962): Studies on paramphistomiasis. II. The mass production of metacercariae of *Paramphistomum microbothrium* Fischöder 1901.
Onderstepoort J. vet. Res. 29, 189-195
- Szidat, L. (1937): Über die Entwicklungsgeschichte und den ersten Zwischenwirt von *Paramphistomum cervi* Zeder 1790 aus dem Magen von Wiederkäuern.
Z. Parasitenkd. 9, 1-19
- Takahashi, S. (1928): Über die Entwicklungsgeschichte von *Paramphistomum cervi*.
Zbl. ges. Hyg. 18, 278
- Varma, A.K. (1961): Observations on the biology and pathogenicity of *Cotylophoron cotylophorum* (Fischöder, 1901).
J. Helminth. 35, 161-168
- Vujic, B. (1965): *Paramphistomoza prezivara i principi odredivanja pripadnosti ovih parazita*.
Veterinaria, Saraj. 14, 471-478
- Willmott, S. (1950): On the species of *Paramphistomum* Fischöder, 1901 occurring in Britain and Ireland with notes on some material from the Netherlands and France.
J. Helminth. 24, 155-170
- Wilson, R.A., T. Draskau (1976): The stimulation of daughter redia production during the larval development of *Fasciola hepatica*.
Parasitology 72, 245-257
- Wright, C.A., V.R. Southgate, G.W. Howard (1979): A note on the life-cycles of some amphistome flukes in Zambia.
J. Helminth. 53, 251-252
- Yusuf, I.A., M.A. Chaudhry (1970): Species of paramphistomes (Trematoda) from buffaloes in Peshawar region of West Pakistan.
Trop. Anim. Hlth. Prod. 2, 235-237

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch möchte ich an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Themas und die ausgezeichneten Arbeitsbedingungen am Institut danken.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. K. Schmid für die wertvollen Hinweise und die jederzeit gern gewährte Anleitung bei der Anfertigung meiner Arbeit.

LEBENS LAUF

Name: Hilde-Ute Rückrich

geboren: 19. 11. 1954 in Bad Kreuznach

Eltern: Albert Rückrich, Landwirt, gest. 1975
Helga Rückrich, Meisterin der ländlichen
Hauswirtschaft
6509 Bornheim
Hindenburgring 39

Grundschule: 1961-1965 in Bornheim

Gymnasium: 1965-1973
Abitur: 18. 5. 1973 am Neusprachlichen
Gymnasium in Alzey/Rhh.

Studium: 2 Semester Agrarbiologie
Universität Stuttgart-Hohenheim
1974-1980 Tiermedizin
Universität München

Staatsexamen: 13. 6. 1980

Approbation: 25. 8. 1980

